



anses

Valeurs toxicologiques
de référence

L'acroléine

Avis révisé de l'Anses
Rapport révisé
d'expertise collective

Septembre 2022

Connaître, évaluer, protéger

Maisons-Alfort, le 6 septembre 2022

AVIS révisé¹
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,
de l'environnement et du travail

relatif à l'élaboration de valeur toxicologique de référence (VTR) par voie respiratoire pour
l'acroléine (CAS n°107-02-8)

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont publiés sur son site internet.

Suite à la réévaluation du potentiel cancérigène de l'acroléine par le CIRC en 2021 (CIRC, 2021), l'Anses s'est auto-saisie pour évaluer la pertinence de mettre à jour la VTR long terme de l'acroléine au regard des conclusions du centre international de recherche sur le cancer (CIRC) et de proposer dans cette éventualité de nouvelles VTR.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Une valeur toxicologique de référence (VTR) est un indice toxicologique qui permet de qualifier ou de quantifier un risque pour la santé humaine. Elle établit le lien entre une exposition à une substance toxique et l'occurrence d'un effet sanitaire indésirable. Les VTR sont spécifiques d'une durée d'exposition (aiguë, subchronique ou chronique) et d'une voie d'exposition (orale, respiratoire, etc.). La construction des VTR diffère en fonction des connaissances ou des hypothèses formulées sur les mécanismes d'action des substances. Actuellement, l'hypothèse par défaut est de considérer une relation entre l'exposition, ou la dose, et l'effet, ou la réponse. En l'état actuel des connaissances et par défaut, on considère généralement que, pour les effets non cancérigènes, la toxicité ne s'exprime qu'au-delà d'un seuil de dose (Anses, 2017).

En pratique, la construction de VTR comprend les étapes suivantes :

- recenser et analyser les données de toxicité disponibles, sur la base d'études épidémiologiques et/ou expérimentales ;
- identifier le ou les organes cibles et l'effet critique ;
- identifier l'hypothèse de construction, à seuil ou sans seuil de dose, en fonction du mode d'action de la substance ;
- choisir une étude clé de bonne qualité scientifique permettant généralement d'établir une relation dose – réponse ;

¹ Annule et remplace l'avis du 22 janvier 2020, cf. suivi des révisions en Annexe 1.

- définir un point de départ (PoD) chez l'Homme ou l'animal à partir de cette étude, éventuellement dans le cas d'un PoD obtenu chez l'animal, ajuster ce PoD à l'Homme ;
- pour une VTR à seuil, appliquer des facteurs d'incertitude à ce PoD de manière à dériver une VTR applicable à l'ensemble de la population ;
- pour une VTR sans seuil, réaliser une extrapolation linéaire à l'origine afin de déterminer un excès de risque unitaire (ERU)².

L'élaboration des VTR suit une approche très structurée et exigeante qui implique des évaluations collectives par des groupes de spécialistes.

Dans le cadre du programme de travail de la mission d'expertise sur les valeurs guides de qualité d'air intérieur (VGAI) de l'Anses, un travail d'expertise en vue de la fixation de VGAI court et long termes a été réalisé pour l'acroléine (Anses, 2012). La démarche de construction d'une VGAI étant similaire à celle d'une VTR par voie respiratoire, l'Anses a valorisé le travail réalisé en proposant des VTR court, moyen et long termes par inhalation pour l'acroléine (Anses, 2020). Les VGAI et VTR proposées respectivement en 2012 et 2019 sont décrites en Annexe 2 du rapport.

Suite à la réévaluation du potentiel cancérigène de l'acroléine par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) en 2021 (CIRC, 2021), l'Anses s'est auto-saisie pour évaluer la pertinence de mettre à jour la VTR long terme, au regard des conclusions du CIRC et de proposer de nouvelles VTR si pertinent.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'Anses a confié au comité d'experts spécialisé (CES) « Valeurs sanitaires de référence » l'instruction de cette auto-saisine. Deux rapporteurs issus du CES « Valeurs sanitaires de référence » ont été nommés pour suivre ces travaux. Les travaux d'expertise ont été soumis régulièrement au CES « Valeurs sanitaires de référence », tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques (8 avril, 2 juillet et 16 décembre 2021 et 28 janvier et 10 mars 2022). Le rapport tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES « Valeurs sanitaires de référence ». Le rapport d'expertise, ainsi que l'avis, ont été validés par le CES « Valeurs sanitaires de référence » le 10 mars 2022.

Ces travaux sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires.

Pour l'expertise de 2019, la synthèse des données toxicologiques avait été rédigée sur la base des rapports de synthèse réalisés par des organismes reconnus au niveau international (ATSDR, 2007 ; Ontario Ministry of the Environment, 2009 ; NRC, 2010 ; INRS, 1999 ; Anses, 2014) et complétés par une recherche bibliographique réalisée de 2014 à septembre 2019. Pour l'actualisation de l'expertise de 2019, la synthèse des données toxicologiques s'est appuyée sur des rapports de synthèse récents réalisés par des organismes reconnus au niveau international (INRS, 2021 ; CIRC, 2021) complétés par une recherche bibliographique réalisée jusqu'en novembre 2021.

² ERU correspond à l'excès de risque d'apparition d'un effet néfaste sur la santé pour des individus exposés durant leur vie (entière ou professionnelle) à une unité de concentration d'exposition (aussi appelé « unité de dose » lorsque cela se rapporte à une concentration biologique) par rapport à des individus non exposés.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

3.1. Synthèse des données toxicologiques

3.1.1. Toxicocinétique

L'acroléine est faiblement absorbée par inhalation. Des études menées chez le chien indiquent que l'acroléine est retenue dans le tractus respiratoire supérieur (75-80 %). Environ 20 % de la concentration inhalée atteint l'arbre respiratoire inférieur. Par inhalation, l'acroléine réagit directement au point de contact avec l'organisme, cette forte réactivité entraînant une distribution systémique limitée.

La distribution locale de l'acroléine au sein de la cavité nasale jusqu'au nasopharynx dépend probablement, comme pour les autres gaz très réactifs (catégorie 1), de la surface de contact, de la répartition du flux d'air inspiré dans les différentes zones rencontrées du nez vers le poumon, de la résistance à l'écoulement dans ces différents compartiments.

Les informations sur le métabolisme de l'acroléine sont limitées. L'acroléine est rapidement métabolisée. Les métabolites conjugués ont un potentiel toxique fortement réduit par rapport à l'acroléine. La principale voie d'élimination est la conjugaison avec le glutathion (GSH) dans les tissus.

3.1.2. Toxicité aiguë

Quelques études anciennes chez l'Homme ont rapporté des décès suite à l'inhalation d'acroléine (350 mg.m⁻³ pendant 10 minutes) (Prentiss, 1937 cité dans Ontario Ministry of the Environment, 2009).

Les données humaines disponibles sont, pour la plupart, issues de travaux relativement anciens sur volontaires sains (Sim et Pattle, 1957 cité dans US EPA, 2003 ; Weber-Tschopp *et al.*, 1977 ; Darley *et al.*, 1960 ; Stephens *et al.*, 1961 cité dans Ontario Ministry of the Environment, 2009). L'irritation oculaire est l'effet le plus souvent décrit chez l'Homme, suite à une exposition aiguë à l'acroléine (à partir de 0,14 mg.m⁻³) (Darley *et al.*, 1960). Des effets sur l'arbre respiratoire ont également été observés chez des volontaires tels qu'une irritation du nez et de la gorge après 5 secondes (2,8 mg.m⁻³), une irritation nasale au bout de 10 minutes (0,35 mg.m⁻³) et une diminution significative de la fréquence respiratoire au bout de 35 minutes (1,4 mg.m⁻³) (Weber-Tschopp *et al.*, 1977).

Chez l'animal, de nombreuses études expérimentales décrivent l'acroléine comme un toxique respiratoire important. Une irritation nasale, des difficultés respiratoires ainsi que des lésions de l'arbre respiratoire et des poumons ont en effet été observées. Des modifications histologiques au niveau de la cavité nasale, de l'épithélium respiratoire, des poumons, des bronches ou de la trachée ont de plus été mises en évidence chez le rat, la souris, le hamster, le cobaye, le chien et le lapin (dégénérescence de l'épithélium respiratoire et olfactif, réactions inflammatoires aiguës) (ATSDR, 2007, US EPA 2003 et Ontario Ministry of the Environment, 2009 ; Sun *et al.*, 2014 ; Snow *et al.*, 2017 ; Buckley *et al.*, 1984). L'acroléine est considérée comme un irritant sensoriel communément évalué par la mesure de la concentration qui entraîne une diminution de 50 % du débit respiratoire (RD50 : 2,4 – 6,8 mg.m⁻³ chez la souris et 11 – 21 mg.m⁻³ chez le rat) (US EPA, 2003 ; Cassee *et al.*, 1996a et c). L'acroléine entraîne également chez le rat une hypersécrétion de mucus impliquée dans le développement de pathologies respiratoires obstructives chroniques. Une hyperréactivité bronchique, caractéristique des maladies réactives des voies aériennes telles que l'asthme, a été mise en évidence chez des cobayes exposés à l'acroléine (US EPA, 2003 et OEHA, 2008).

3.1.3. Irritation oculaire

L'exposition chronique à des vapeurs d'acroléine (4 - 8 mg.m⁻³) entraîne des irritations oculaires chez le chien et le singe, se manifestant par des larmolements et la fermeture des paupières. Les rats et les cobayes semblent moins sensibles.

3.1.4. Toxicités subchronique et chronique

Deux études épidémiologiques relatives à la pollution de l'air intérieur suggèrent un lien entre l'exposition à l'acroléine et la survenue d'effets respiratoires (asthme) (Annesi-Maesano *et al.*, 2011 ; DeCastro, 2014).

Les différentes études chez l'animal indiquent que l'appareil respiratoire est l'organe cible de l'acroléine. La muqueuse nasale est la cible la plus sensible. La sévérité des effets respiratoires s'accroît avec la concentration en acroléine. Des effets irritants et inflammatoires sur l'appareil respiratoire et des modifications histopathologiques sont aussi bien observés chez la souris (à 0,9 mg.m⁻³), le rat (à partir de 0,9 mg.m⁻³), le hamster (à partir de 3,3 mg.m⁻³), le cobaye (à partir de 1,6 mg.m⁻³) que chez le lapin (à partir de 1,6 mg.m⁻³) (Lyon *et al.*, 1970 ; Feron *et al.*, 1978 ; Kutzman *et al.*, 1984, 1985 et 1986 ; Costa *et al.*, 1986 ; Dorman *et al.*, 2008 ; Mastumoto *et al.*, 2021).

Dans l'étude de Matsumoto *et al.*, des rats F344 et des souris B6C3F1 des deux sexes ont été exposés à, respectivement, 0 ; 0,1 ; 0,5 ou 2 ppm (v/v) (0 – 0,23 – 1,16 – 4,6 mg.m⁻³) et 0 ; 0,1 ; 0,4 ou 1,6 ppm (v/v) (0 – 0,23 – 0,93 - 3,7 mg.m⁻³) d'acroléine, 6 heures par jour et 5 jours par semaine pendant 2 ans (Matsumoto *et al.*, 2021). Il n'a été observé de symptômes ou de signes cliniques associés à l'exposition dans aucun des groupes de rats et de souris.

Chez les rats, les prises alimentaires ont été diminuées dans les deux sexes après exposition à la plus forte concentration (4,6 mg.m⁻³). Les poids absolus du foie, de la rate et des reins étaient diminués, en fin d'étude chez les rats mâles exposés à 4,6 mg.m⁻³. Dans ce groupe, des élévations de l'activité des enzymes hépatiques et des diminutions statistiquement significatives des concentrations sériques de cholestérol, triglycérides, phospholipides, créatinine et calcium ont également été notées.

Chez les souris, la survie a été diminuée dans les deux sexes, dans tous les groupes y compris chez les témoins, du fait de lésions rénales avec des dépôts amyloïdes, ce qui a obligé à interrompre les expositions à la 93^{ème} semaine chez les mâles et à la 99^{ème}, chez les femelles. Chez les souris des deux sexes, exposées à la plus forte concentration (3,7 mg.m⁻³), les prises alimentaires et le poids corporel étaient diminués.

Concernant les lésions histologiques non néoplasiques des voies respiratoires :

- chez les rats, au niveau des fosses nasales, une augmentation significative de l'inflammation, de la métaplasie et de l'atrophie de l'épithélium olfactif, ainsi que de la métaplasie des cellules squameuses, des cellules transitionnelles et des cellules caliciformes a été observée chez les animaux des deux sexes à la plus forte concentration (4,6 mg.m⁻³). À cette concentration, des infiltrats éosinophiles étaient également présents chez les mâles. En outre, à la plus forte concentration, un œdème et une prolifération des fibres musculaires étaient également présents au niveau de la *lamina propria* chez les animaux des deux sexes. L'examen histologique du reste de l'appareil respiratoire et des autres organes, n'a pas montré d'anomalies ;
- chez les souris des deux sexes, au niveau des fosses nasales, une augmentation de l'incidence des lésions a été observée à 3,7 mg.m⁻³, avec une inflammation, une métaplasie des cellules squameuses, une hyperplasie, une métaplasie et une prolifération cellulaires de l'épithélium respiratoire, une métaplasie et une atrophie de l'épithélium olfactif. Chez les mâles seulement, des infiltrats éosinophiles et une hyperplasie des cellules transitionnelles étaient également présents à 3,7 mg.m⁻³. Chez les femelles

seulement, des lésions inflammatoires et une hyperplasie de l'épithélium respiratoire nasal ont également été observées à 0,93 mg.m⁻³. L'examen histologique du reste de l'appareil respiratoire et des autres organes n'a pas montré d'autres anomalies que des dépôts amyloïdes dans tous les organes et, en particulier, dans les reins ainsi que des lésions rénales avec ou sans dépôts amyloïdes. Ces anomalies étant aussi fréquentes chez les témoins que chez les animaux exposés, elles ne sont pas considérées comme des effets de l'exposition à l'acroléine.

3.1.5. Effets sur la reproduction et le développement

Aucune publication sur les effets sur la reproduction chez l'Homme n'a été recensée. Chez l'animal, l'acroléine administrée par voie orale ou inhalée n'a induit d'effets ni sur la fertilité, ni sur le développement des fœtus à des doses non toxiques pour la mère. Ceci est probablement dû au fait qu'elle ne peut atteindre sa cible par voie générale du fait de sa grande réactivité locale. Cependant, lorsqu'elle est administrée directement au contact de l'embryon ou du fœtus, elle induit des effets embryotoxiques et tératogènes (études *in vivo* par injection intraveineuse ou intra-amniotique chez rat et lapin) (US EPA, 2003 ; Yang *et al.*, 2017 ; Jeelani *et al.*, 2018 ; CE, 2001 ; OMS, 1992).

3.1.6. Génotoxicité

D'après la monographie du CIRC, l'acroléine est un génotoxique (CIRC, 2021).

Les données résumées ci-dessous sont issues de l'évaluation du CIRC de 2021 :

- il existe des preuves de formation d'adduits acroléine-ADN chez l'Homme, principalement issues d'études chez des fumeurs. Bien que la fumée de tabac contienne une quantité importante d'acroléine, le CIRC souligne que la faible différence de formation de ces adduits entre les fumeurs et non-fumeurs peut s'expliquer par d'autres sources d'exposition à l'acroléine (ex. aliments frits). Ainsi, les experts du CES soulignent qu'aucune donnée sur la génotoxicité de l'acroléine *in vivo* chez l'Homme n'est disponible ;
- un nombre limité d'études (majoritairement menées par voies intrapéritonéale ou orale) *in vivo* chez l'animal sur les paramètres génotoxiques sont disponibles et sont largement négatives ;
- dans plusieurs études sur des cellules épithéliales bronchiques humaines en culture primaire ainsi que sur des lignées cellulaires humaines en culture (cellules épithéliales bronchique humaines (BEAS-2B, A549), fibroblastes pulmonaires (IMR-90)), l'acroléine a induit systématiquement des cassures de brins d'ADN, la formation de micronoyaux et des liaisons croisées ADN-protéine. De plus, de nombreuses études sur des cellules humaines ont démontré que l'acroléine inhibe directement les protéines impliquées dans les trois voies principales de réparation de l'ADN ;
- l'acroléine a induit des résultats positifs au test d'Ames sans activation métabolique (ligne directrice n° 471 : Essai de mutation réverse sur des bactéries). La mutagénicité de l'acroléine a également été démontrée dans des expériences acellulaires utilisant de l'ADN plasmidique (système SupF transfecté dans des cellules humaines) (CIRC, 2021).

Le CES conclut que les études *in vitro* suggèrent que l'acroléine est un génotoxique mais il existe peu de données *in vivo* et aucune donnée chez l'Homme.

3.1.7. Cancérogénicité

Aucune publication sur la cancérogénicité de l'acroléine chez l'Homme n'a été recensée.

En 2003, l'US EPA³ avait évalué l'acroléine et avait considéré que les données étaient insuffisantes pour statuer sur le potentiel cancérigène de l'acroléine chez l'Homme, que ce soit par inhalation ou par ingestion (US EPA, 2003). En 1995, le CIRC avait également évalué l'acroléine et avait conclu qu'il n'existait pas de preuves suffisantes de la cancérigénicité de l'acroléine chez l'Homme ou l'animal (groupe 3) (CIRC, 1995).

La réévaluation du potentiel cancérigène de l'acroléine réalisée par le CIRC fin 2020 a conduit à une classification de l'acroléine comme « probablement cancérigène pour l'Homme » (groupe 2A), en raison de preuves *in vivo* de cancérigénicité chez les rongeurs ainsi que de preuves mécanistiques solides *in vitro* sur des cellules humaines (CIRC, 2021). De plus, des adduits à l'ADN de l'acroléine ont été observés *in vitro* et ont été détectés également dans des tissus humains, ce qui fournit des éléments supplémentaires en termes de potentiel cancérigène de l'acroléine chez l'Homme. Aucune étude épidémiologique de cancérigénicité n'a été rapportée chez l'Homme.

Le rapport du JBRC⁴ (JBRC, 2016) sur l'étude de cancérigénicité et toxicité chronique chez le rat et la souris a été un élément clé dans la décision du reclassement du CIRC (CIRC, 2021). L'étude de Matsumoto *et al.* (dont les auteurs sont affiliés au JBRC), parue en 2021, qui analyse ces données du JBRC n'était pas encore publiée lors de la réévaluation par le CIRC.

L'étude présentée par Matsumoto *et al.* vise à étudier la cancérigénicité de l'acroléine chez le rat et la souris, mâles et femelles, dans le cadre d'une étude d'exposition par inhalation de deux ans. L'étude renseigne sur la survie, les poids corporels et la caractérisation des lésions néoplasiques et non néoplasiques chez les rats et les souris mâles et femelles (Matsumoto *et al.*, 2021).

Dans cette étude, 4 groupes de rats F344/DuCrIcrIj (SPF) (n = 50/sexe/groupe) ont été exposés par inhalation corps entier à 0 ; 0,1 ; 0,5 et 2 ppm (v/v) (0 - 0,23 - 1,16 - 4,6 mg.m⁻³) d'acroléine 6 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 104 semaines. De même, 4 groupes de souris B6D2F1/Crlj (SPF) (n = 50/sexe/groupe) ont été exposés par inhalation corps entier à 0 ; 0,1 ; 0,4 ; 1,6 ppm (v/v) (0 - 0,23 - 0,93 - 3,7 mg.m⁻³) d'acroléine 6 heures par jour, 5 jours par semaine. Dans l'étude sur les souris, l'administration d'acroléine a été arrêtée à la 93^{ème} semaine chez les mâles et la 99^{ème} semaine chez les femelles en raison d'une baisse des taux de survie dans tous les groupes, y compris le groupe témoin.

Les doses d'acroléine utilisées dans cette étude étaient appropriées et basées sur la dose maximale tolérée (DMT) à la suite d'une étude par inhalation de 13 semaines. Les doses ont été choisies conformément aux lignes directrices de l'Institut national du cancer (INCA) et du CIRC. Il s'agit d'une étude de bonne qualité et d'un niveau de confiance élevé. Le protocole d'exposition semble correct. La source et la pureté de l'acroléine utilisée dans la présente étude ont été documentées avant et après utilisation et les concentrations d'acroléine ont été surveillées à l'aide de la chromatographie en phase gazeuse toutes les 15 minutes pendant les périodes d'exposition. Le nombre d'animaux étudiés à chaque dose était suffisant et conforme à la ligne directrice 451 de l'OCDE. Les tests statistiques utilisés étaient appropriés et les données historiques sur les témoins ont été correctement référencées.

Chez le rat, des lésions néoplasiques et non-néoplasiques ont été observées chez les mâles et les femelles à la dose la plus élevée de 4,6 mg.m⁻³. Il s'agissait :

- d'une augmentation de l'incidence du rhabdomyome de la cavité nasale des rats femelles exposés à 4,6 mg.m⁻³ d'acroléine. Cette tumeur, provenant du muscle strié, est très rare dans la cavité nasale chez l'Homme (Wurm *et al.*, 2005) et chez le rat. Ce type de tumeur est toutefois bénin. Par conséquent, le CES considère discutable de retenir cet effet pour évaluer la cancérigénicité de l'acroléine ;

³ United States Environmental Protection Agency (États-Unis)

⁴ Japan Bioassay Research Center

- d'une augmentation de l'incidence des carcinomes spinocellulaires (ou carcinomes épidermoïdes) dans la cavité nasale. Le CES considère que, même s'il n'y a pas de différence statistiquement significative par rapport au groupe contrôle et une absence de relation dose-réponse, cette tumeur néoplasique très rare (données historiques du JBRC : 0 %) est à prendre en considération.

Dans la présentation des résultats et les calculs statistiques, le JBRC et Matsumoto *et al.* combinent le rhabdomyome et les carcinomes spinocellulaires ce qui mène à un test de tendance positif. Le CIRC reprend cette combinaison. Cependant, selon les critères du CIRC (CIRC, 2019), les tumeurs bénignes ne peuvent être combinées avec les tumeurs malignes dans l'évaluation de l'incidence que lorsque :

- elles apparaissent en même temps que les tumeurs malignes dans un même organe ou tissu et qu'elles proviennent du même type de cellules dans une étude particulière ;
- elles semblent représenter une étape dans la progression vers la malignité.

Or, ces critères ne sont pas remplis : le rhabdomyome est une tumeur bénigne très rare dérivée des cellules musculaires striées et les carcinomes spinocellulaires sont des tumeurs malignes agressives qui naissent dans les cellules épithéliales squameuses.

Chez la souris, une augmentation significative de l'incidence des adénomes de la cavité nasale a été observée chez les souris femelles à la dose la plus élevée de 3,7 mg.m⁻³. Ce type de tumeur, typiquement considéré comme bénin, est considéré comme une lésion néoplasique par le JBRC et Matsumoto *et al.* (JBRC, 2016 ; Matsumoto *et al.*, 2021). Dans le rapport du JBRC, un test de Cochran-Armitage significatif (p = 0,0347) pour le lymphome malin est rapporté chez la souris femelle (test exact de Fisher et test de Peto non significatifs) (JBRC, 2016). Les auteurs ne rapportent pas de différence significative de survie à la fin de l'exposition (mâles, 93 semaines : 22% chez les contrôles vs 30% dans le groupe à 3,7 mg.m⁻³ ; femelles, 99 semaines : 22% vs 38%). La diminution de survie semble donc plus précoce et plus marquée chez les contrôles que dans le groupe à 3,7 mg.m⁻³, ce qui rend les tests difficilement interprétables. Le test de tendance linéaire de Cochran-Armitage est basé sur une hypothèse binomiale selon laquelle les animaux ont le même risque de développer la tumeur pendant la durée de l'étude. Cependant, le risque de développer la tumeur chez l'animal augmente à mesure que la durée de l'étude augmente. L'hypothèse n'est donc plus valable si certains animaux meurent plus tôt que d'autres. De plus, aucune référence à l'augmentation de lymphomes malins (citée dans le rapport d'étude du JBRC, 2016) n'est faite dans la publication de Matsumoto *et al.* (Matsumoto *et al.*, 2021). Enfin, les données historiques du JBRC rapportent une prévalence de 28-46% chez les souris femelles. Il est également à noter que les lymphomes malins sont les tumeurs néoplasiques les plus communes chez la souris femelle (Yamate *et al.*, 1990).

Les études par inhalation de Feron et Krusysse (Feron et Krusysse, 1977) et Le Bouffant *et al.* (Le Bouffant *et al.*, 1980), réalisées respectivement chez des hamsters exposés à 9,2 mg.m⁻³ et des rates exposées à 18,3 mg.m⁻³, ne mettent pas en évidence de lésions néoplasiques. À noter toutefois que ces études présentent de nombreuses limites expérimentales ce qui suscite des doutes quant à l'interprétation des résultats (dose unique, absence de dose contrôle, etc.).

3.1.8.Mécanismes d'action

Mécanismes d'action d'irritation des voies respiratoires supérieures

L'acroléine, comme les autres aldéhydes (acétaldéhyde, formaldéhyde) est un composé présentant une forte hydrosolubilité ainsi qu'une forte réactivité chimique connue pour conduire à la surproduction d'espèces réactives de l'oxygène et à la survenue d'un stress oxydant et d'une inflammation (Xiong *et al.*, 2018 ; Moghe *et al.*, 2015).

La majorité des effets de l'acroléine est due à des réactions avec les groupements thiols (SH) (NRC, 2010). En effet, l'acroléine présente une affinité importante avec les groupements SH. De

ce fait, elle se lie rapidement et irréversiblement avec les macromolécules possédant un groupement SH dénaturant ainsi ces macromolécules en formant des thiols éthers. Ce mécanisme est également démontré à forte concentration lorsque l'acroléine réagit sur le groupement SH de la cystéine du récepteur TRPA1 (transient receptor potential ankyrin 1) permettant l'ouverture de canaux calciques, l'activation neuronale, la sécrétion de substance P et de la CGRP (calcitonin gene related peptide). Cette cascade d'évènements conduit à une inflammation tissulaire locale, à l'activation du signal de la douleur, à une augmentation du flux sanguin, à la perméabilité tissulaire et à l'œdème, entraînant une altération pulmonaire et cardiovasculaire (Conklin *et al.*, 2017 ; Kurrhanewicz *et al.*, 2017). L'acroléine dénature également les protéines et interfère avec la synthèse des acides nucléiques. Bien que de nombreuses molécules réagissent dans les conditions physiologiques avec l'acroléine, le produit de réaction le plus important provient de l'addition nucléophile sur le carbone éthylénique terminal avec pour conséquence, entre autres, une déplétion en glutathion cellulaire et une inhibition des protéines de fonction (enzymes) contenant des groupements SH (ATSDR, 2007). La désactivation des groupements SH des protéines de structure (cellulaires) pourrait aboutir à la perturbation du métabolisme, à l'inhibition de la croissance cellulaire ou à la division et la mort cellulaire. L'irritation respiratoire par l'acroléine pourrait également être due à la réactivité avec les groupements SH des protéines constitutives des récepteurs des muqueuses respiratoires (Beauchamp *et al.*, 1985 cité dans le NRC, 2010). Ce mécanisme d'action semble similaire à celui des autres aldéhydes menant à des symptômes liés à l'irritation des muqueuses oculaires et respiratoires associés à des lésions inflammatoires avec hyperplasie épithéliale, métaplasie squameuse, prolifération des cellules épithéliales nasales, dégénérescence de l'épithélium olfactif, perte de neurones olfactifs.

Mécanismes d'action cancérigène des voies respiratoires supérieures :

D'un point de vue mécanistique, l'acroléine possède plusieurs caractéristiques clés de substances cancérigènes : génotoxicité, stress oxydant, électrophilie, immuno-suppression, inflammation chronique, cassures double brin, altérations de la réparation de l'ADN et instabilité génomique (CIRC, 2021).

De nombreuses publications montrent de manière cohérente que l'acroléine présente des caractéristiques clés de substances cancérigènes.

Il semble que l'acroléine ait un mécanisme d'action cancérigène similaire à celui du formaldéhyde et de l'acétaldéhyde et que de nombreuses publications, sur la toxicité et la génotoxicité *in vitro*, montrent de manière cohérente que l'acroléine présente des caractéristiques clés de substances cancérigènes. Cependant, il existe un nombre limité d'études *in vivo* sur les paramètres génotoxiques et celles-ci présentent plusieurs limites. En l'absence de données *in vivo* concluantes, le CES estime qu'il n'est pas possible d'identifier un seuil de dose en deçà duquel l'acroléine ne serait pas cancérigène. Par défaut, le CES retient un mode d'action sans seuil de dose pour l'acroléine.

3.1.9. Populations sensibles

Certaines populations semblent être plus sensibles à l'effet irritant de l'acroléine, en particulier, les très jeunes enfants du fait de l'immaturation de leurs voies respiratoires et les personnes présentant certaines pathologies (oculaires, cutanées, respiratoires telles que l'asthme) ou allergies (US EPA, 2003 ; OEHHA, 2008).

3.2. Élaboration de VTR court, moyen et long termes et cancérigène par inhalation

3.2.1. VTR court terme par inhalation

Choix de l'effet critique

L'acroléine est un irritant des voies respiratoires et/ou des muqueuses oculaires. Les symptômes précoces observés, suite à une exposition aiguë par inhalation sont une irritation sensorielle, puis

des lésions (brûlures chimiques) des voies respiratoires. Le tissu nasal semble être la cible la plus sensible à l'irritation sensorielle, avec une apparition d'une sensation d'irritation notable après une exposition de quelques secondes à 0,3 ppm. Des concentrations plus importantes (2-5 ppm) entraînent des irritations plus sévères sur l'ensemble du tractus respiratoire, puis des brûlures chimiques.

Ainsi, le CES a décidé de retenir comme effet critique les effets irritants sensoriels sur l'appareil respiratoire supérieur.

Analyse des VTR

Deux VTR court terme par inhalation sont disponibles : celle de l'OEHHA (2008) de **2,5 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$** (0,001 ppm) et celle de l'ATSDR (2007) de **6,9 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$** (0,003 ppm).

Le CES **n'a pas retenu la VTR de l'OEHHA**. Il a considéré la LOAEC⁵ issue d'une expérience réalisée avec des concentrations croissantes d'acroléine (Weber-Tschopp *et al.*, 1977) non fiable du fait de difficultés métrologiques (écart-type des mesures non connu avec des mesures des concentrations par colorimétrie).

L'ATSDR a retenu la même étude clé que l'OEHHA mais a considéré l'expérience réalisée à concentration constante, ce qui permet d'être sûr de la concentration mesurée dans l'étude de Weber-Tschopp *et al.* (Weber-Tschopp *et al.*, 1977). Plusieurs points ont été discutés par les membres du CES :

- l'application d'un facteur d'incertitude de 10 pour l'utilisation d'une LOAEC (UF_L). Elle n'est pas clairement explicitée dans le rapport de l'ATSDR mais le CES a considéré que cet UF_L de 10 pouvait être justifié puisque des effets apparaissent à des doses inférieures à la LOAEC retenue dans l'étude de Weber-Tschopp *et al.* menée à des concentrations croissantes (irritation oculaire dès 0,09 ppm) ;
- l'éventuelle application d'un ajustement temporel réalisé par l'application de la loi de Haber simplifiée. Selon cette loi, la concentration et le temps sont considérés comme des paramètres d'influence équivalente sur la toxicité. Ceci conduit à considérer que l'incidence et/ou la sévérité d'un effet dépend de l'exposition totale à une substance potentiellement toxique sans faire de distinction entre les pics d'exposition et les expositions plus étalées dans le temps. Cependant, il est communément admis que les effets irritants sensoriels seraient dépendants de la concentration plutôt que de la dose totale et/ou de la durée d'exposition (Belkebir *et al.*, 2011). Ainsi, il ne serait pas nécessaire d'appliquer un ajustement temporel. La VTR de l'ATSDR étant basée sur des sensations d'irritations nasale et de la gorge, l'ATSDR n'a donc pas, à juste titre, appliqué d'ajustement temporel ;
- bien que plus récente, l'étude réalisée par Dwivedi *et al.* (Dwivedi *et al.*, 2015) ne remet pas en question l'étude de Weber-Tschopp *et al.* (Weber-Tschopp *et al.*, 1977) retenue par l'ATSDR pour construire sa valeur. En effet, l'étude de Dwivedi *et al.*, réalisée sur un nombre limité d'individus ($n = 18$), ne montre pas d'effet fonctionnel respiratoire et rapporte seulement une sensation d'irritation oculaire mineure à 0,1 ppm mais qui n'est pas cliniquement objectivée.

Le CES retient la VTR de l'ATSDR de 6,9 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (0,003 ppm) jugeant celle-ci de bonne qualité. Pour les substances irritantes telles que l'acroléine, le CES décide de retenir une durée d'application de 24 heures.

Un niveau de confiance global **fort** a été attribué à cette VTR en se basant sur les 4 critères suivants : la nature et la qualité des données (fort), le choix de l'effet critique et le mode d'action (fort), le choix de l'étude clé (fort) et le choix de la dose critique (fort).

⁵ Lowest Observed Adverse Effect Concentration (= concentration minimale entraînant un effet néfaste observé)

3.2.2.VTR moyen terme par inhalation

Choix de l'effet critique

L'effet critique retenu, suite à une exposition subchronique à l'acroléine, est la lésion de l'épithélium respiratoire des voies aériennes supérieures. En effet, ces lésions sont bien décrites avec une relation causale établie à partir de nombreuses données animales et mécanistiques.

Le CES retient comme effet critique la lésion de l'épithélium de l'appareil respiratoire supérieur pour des expositions subchroniques.

Analyse des VTR

Deux VTR moyen terme par inhalation sont disponibles, proposées par l'OEHHA en 2008 et l'ATSDR en 2007.

L'ATSDR a retenu l'étude de Feron et *al.* qui ne met en évidence des effets à la LOAEC que chez 1 rat sur 12 (Feron et *al.*, 1978). Les experts considèrent qu'au vu du faible nombre de rats atteints et en l'absence d'étude statistique réalisée, cette concentration ne peut pas être considérée comme une LOAEC, mais apporte une indication de possibilité d'effet à une concentration proche de cette valeur. De ce fait, la VTR moyen terme de l'ATSDR basée sur l'étude de Feron et *al.* n'est pas retenue.

La VTR moyen terme de l'OEHHA ne peut également pas être retenue bien que basée sur une étude de bonne qualité (Dorman et *al.*, 2008). En effet, l'OEHHA réalisant un ajustement allométrique basé sur l'utilisation d'un modèle de dynamique des fluides dans la cavité nasale, la construction de cette valeur ne suit pas les recommandations méthodologiques de l'Anses pour la construction des VTR (Anses, 2017).

Le CES ne retient pas les VTR existantes et propose de construire une VTR moyen terme.

Construction de la VTR moyen terme

- Choix de l'étude clé et du point de départ

Deux études, Dorman et *al.* et Feron et *al.*, ont été choisies par des organismes internationaux reconnus dans le cadre de constructions de VTR (Dorman et *al.*, 2008 ; Feron et *al.*, 1978). Aucune autre étude subchronique n'a été identifiée par l'Anses d'après la recherche bibliographique réalisée jusqu'en novembre 2021.

Les 2 études ont exposé le corps entier des animaux pendant 13 semaines et ont évalué de nombreux paramètres dont des modifications histopathologiques. Elles mettent en évidence des effets sur l'appareil respiratoire et, plus particulièrement, au niveau de la cavité nasale, avec une relation dose-réponse. Les méthodes analytiques utilisées par les auteurs sont satisfaisantes et ne conduisent pas à écarter l'une et/ou l'autre des études. Feron et *al.* ont injecté directement dans le chromatographe, couplé à un détecteur par ionisation de flamme, les mélanges de gaz auxquels étaient exposés les animaux (Feron et *al.*, 1978). Dorman et *al.* ont contrôlé les concentrations d'exposition par des prélèvements actifs sur 2,4-DNPH (après passage sur un filtre ozone pour empêcher les interférences), extraits ensuite à l'acétonitrile et analysés par HPLC (Dorman et *al.*, 2008). Ces deux études peuvent donc être retenues pour la construction d'une VTR.

Dans l'étude de Dorman et *al.*, des rats mâles Fisher (n = 360) ont été exposés 13 semaines (6 h/j, 5 j/semaine) par inhalation à des concentrations égales à 0 – 0,02 – 0,06 – 0,2 – 0,6 et 1,8 ppm (Dorman et *al.*, 2008). Les auteurs ont mis en évidence des lésions de l'épithélium respiratoire supérieur (hyperplasie, métaplasie squameuse, inflammation) dépendantes de la dose et de la localisation, suite à une exposition d'au moins 4 jours à des concentrations supérieures ou égales à 0,6 ppm. Une NOAEC⁶ de 0,2 ppm est indiquée par les auteurs.

L'étude de Feron et *al.* a comparé les effets chez des rats, des lapins et des hamsters exposés 13 semaines, 6h/j et 5j/semaines à 0,4 – 1,4 et 4 ppm d'acroléine chez les 2 sexes et sur plusieurs

⁶ No Observed Adverse Effect Concentration (= concentration maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé)

espèces (rat, hamster, cobaye). Dans cette étude, le rat apparaît comme l'espèce la plus sensible avec une apparition d'effets dès la plus faible dose au niveau de la cavité nasale chez 1 rat sur 12 (modifications inflammatoires et métaplasiques). Les résultats de cette étude et, principalement ceux rapportés chez le rat, permettent de supporter les résultats de l'étude de Dorman *et al.*.

Le choix de l'étude de Dorman *et al.* de 2008 par le CES par rapport à celle de Feron *et al.* de 1978 est fondé sur différents critères :

- un plus grand nombre d'animaux par test (60 mâles/dose vs 6 animaux/sexe/dose),
- un plus grand nombre de doses testées (5 doses vs 3 doses),
- un plus grand nombre de sections de la cavité nasale examinées (6 sections vs 3),
- la description des données d'incidence contrairement à l'étude de Feron *et al.*,
- la fiabilité du PoD : dans l'étude de Feron *et al.*, les effets observés à la LOAEC n'apparaissent que chez 1 rat sur 12 (Feron *et al.*, 1978). Au vu du faible nombre de rats atteints et en l'absence d'étude statistique réalisée, cette concentration ne peut pas être considérée comme une LOAEC mais apporte une indication d'effets possibles à une concentration de cet ordre de valeur,
- la date de la publication (2008 vs 1978).

Ainsi, le CES retient l'étude de Dorman *et al.* (Dorman *et al.*, 2008) comme étude clé et la NOAEC de 0,2 ppm (0,46 mg/m³) proposée par les auteurs comme point de départ (PoD).

○ Ajustement temporel

Dans l'étude de Dorman *et al.*, des rats mâles Fisher (n = 360) ont été exposés 13 semaines (6 h/j, 5 j/semaine) par inhalation (Dorman *et al.*, 2008). Considérant que l'acroléine est une substance irritante induisant par expositions répétées des lésions tissulaires des voies aériennes supérieures et afin de tenir compte de la discontinuité de l'exposition, un ajustement temporel a été effectué :

$$\text{NOAEC}_{\text{ADJ}} = 0,2 \times (6\text{h}/24\text{h}) \times (5\text{j}/7\text{j}) = 0,2 \times 0,18 = \mathbf{0,036 \text{ ppm (0,08 mg.m}^{-3}\text{)}}$$

○ Ajustement allométrique

Une NOAEC équivalente chez l'Homme (NOAEL_{HEC}) a été calculée à partir de la NOAEC issue de l'étude source pour tenir compte des différences dosimétriques entre l'espèce animale et l'Homme. L'acroléine est considérée comme un gaz de catégorie 1 qui, selon l'US EPA, entraîne des effets respiratoires avec une localisation extra-thoracique. Conformément à la méthode de construction de VTR établie par l'Anses, les experts ont appliqué la formule suivante :

$$\text{NOAEC}_{\text{HEC}} = \text{NOAEC}_{\text{ADJ}} \times \text{Regional Gas Dose Ratio} = \text{NOAEC} \times (V_A/S_{A_A}) / (V_H/S_{A_H})$$

$$\text{NOAEC}_{\text{ADJ HEC}} = 0,036 \times [(0,2/15) / (20/200)] = \mathbf{0,0048 \text{ ppm (0,01 mg.m}^{-3}\text{)}}$$

Avec : NOAEL_{HEC} = NOAEC chez l'Homme

NOAEC_{ADJ} = NOAEC ajustée chez l'animal

V_A = taux de ventilation chez le rat = 0,20 m³/j

S_A = surface de la région extra-thoracique des rats = 15 cm²

V_H = taux de ventilation chez l'Homme = 20 m³/j

S_H = surface de la région extra-thoracique chez l'Homme = 200 cm²

- Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir de la $NOAEC_{HEC}$ a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2017) :

- variabilité inter-espèces (UF_A) : 2,5

Pour tenir compte de la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé et a permis de calculer une concentration équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédemment citée. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5 selon les recommandations de l'IPCS (IPCS, 2005) et conformément à la méthodologie de l'Anses (Anses, 2017).

- variabilité intra-espèce (UF_H) : 10

Le facteur 10 est conservé par défaut lors de l'utilisation d'études réalisées chez l'animal, pour tenir compte de la variabilité au sein de l'espèce humaine et des populations sensibles (enfants, notamment, en lien avec l'asthme).

Un facteur d'incertitude global de 25 est donc utilisé pour la construction de la VTR moyen terme.

- Proposition de VTR moyen terme et niveau de confiance

$$VTR = NOAEC_{ADJ\ HEC} / UF = 0,0048\text{ppm} / 25 = \mathbf{2 \cdot 10^{-4}\text{ ppm}} (0,44\ \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3})$$

Un niveau de confiance global **fort** a été attribué à cette VTR en se basant sur les 4 critères suivants : la nature et la qualité des données (fort), le choix de l'effet critique et le mode d'action (fort), le choix de l'étude clé (fort) et le choix de la dose critique (fort).

3.2.3.VTR long terme par inhalation

Choix de l'effet critique

L'acroléine est une substance irritante des voies respiratoires ou des muqueuses oculaires. Les symptômes observés, suite à une exposition chronique par inhalation, incluent une irritation nasale, de la gorge et des poumons, un œdème pulmonaire, des hémorragies pulmonaires, etc. De plus, du fait de sa grande réactivité, l'acroléine exerce sa toxicité au niveau du point d'entrée dans l'organisme.

Les experts retiennent comme effet critique les effets irritants sur l'appareil respiratoire supérieur qui conduisent à des lésions de l'épithélium pour des expositions répétées. En effet, ces lésions sont bien décrites avec une relation causale établie à partir de nombreuses données animales et mécanistiques.

Analyse des VTR

Quatre VTR long terme par inhalation sont disponibles, proposées par l'OEHHA en 2008, l'US EPA en 2003, Santé Canada en 2000 et l'OMS (Organisation mondiale de la santé) en 2002. Les VTR de Santé Canada et de l'OMS n'ont pas été retenues car elles se basent sur une étude aiguë (Cassee et al., 1996a).

L'US EPA a retenu l'étude de Feron et al. (Feron et al., 1978) qui ne met en évidence des effets à la LOAEC que chez 1 rat sur 12. Les experts considèrent qu'au vu du faible nombre de rats atteints et en l'absence d'étude statistique réalisée, cette concentration ne peut pas être

considérée comme une LOAEC, mais apporte une indication de possibilité d'effet à une concentration proche de cette valeur. De ce fait, la VTR long terme de l'US EPA basée sur l'étude de Feron *et al.* (Feron *et al.*, 1978) n'est pas retenue.

La VTR long terme de l'OEHHA, pour laquelle un ajustement temporel a été appliqué, ne peut être retenue, bien que basée sur une étude de bonne qualité (Dorman *et al.*, 2008). En effet, l'OEHHA réalisant un ajustement allométrique basé sur l'utilisation d'un modèle de dynamique des fluides dans la cavité nasale, la construction de cette valeur ne suit pas les recommandations méthodologiques de l'Anses pour la construction des VTR (Anses, 2017).

Le CES ne retient pas les VTR existantes et propose de construire une VTR long terme.

Construction de la VTR long terme

- Choix de l'étude clé et du point de départ

L'actualisation de la bibliographie jusqu'en 2021 a permis d'identifier une nouvelle étude d'exposition chronique associant l'exposition à l'acroléine chez l'animal avec des effets lésionnels de l'épithélium respiratoire : Matsumoto *et al.* (Matsumoto *et al.*, 2021). Cette étude, décrite précédemment, est une étude approfondie en termes de durée, de nombre d'animaux et d'observations pathologiques, suite à une exposition chronique à l'acroléine par inhalation. L'étude est bien conçue, mise en œuvre et analysée. Ainsi, **l'étude de Matsumoto *et al.* (Matsumoto *et al.*, 2021) est retenue comme étude clé.**

Dans cette étude, les souris femelles ont montré une augmentation statistiquement significative de l'incidence de l'inflammation de l'épithélium respiratoire et de l'hyperplasie de l'épithélium respiratoire pour des concentrations en acroléine plus faibles que chez les rats. Ainsi, les souris femelles exposées pendant 99 semaines sont considérées dans cette étude comme l'espèce la plus sensible. Ceci permet d'identifier une NOAEC de 0,1 ppm et une LOAEC de 0,4 ppm.

Le CES retient l'augmentation de l'incidence de l'inflammation de l'épithélium respiratoire et de l'hyperplasie de l'épithélium respiratoire observée chez les souris femelles à 0,4 ppm (0,93 mg.m⁻³) (LOAEC) permettant d'identifier une NOAEC à 0,1 ppm (0,23 mg.m⁻³). Cette dernière concentration a été retenue comme point de départ.

- Ajustement temporel

Considérant que l'acroléine est une substance irritante induisant par expositions répétées des lésions tissulaires des voies aériennes supérieures et, afin de tenir compte de la discontinuité de l'exposition, un ajustement temporel a été effectué :

$$\text{NOAEC}_{\text{ADJ}} = 0,1 \text{ ppm} \times 6\text{h}/24\text{h} \times 5\text{j}/7\text{j} = 0,018 \text{ ppm} (0,04 \text{ mg.m}^{-3})$$

- Ajustement allométrique

Pour réduire la valeur de l'incertitude sur la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé. Une concentration équivalente humaine (HEC = Human Equivalent Concentration) est calculée.

Pour la voie respiratoire, l'US EPA a développé différents ajustements dosimétriques qui sont réalisés en fonction des propriétés physicochimiques de la substance inhalée (particules ou gaz, fortement solubles ou peu solubles dans l'eau) et du site où sont observés les effets critiques (respiratoires ou extra-respiratoires) conduisant à différentes équations (US EPA, 1994).

D'après les recommandations de l'US EPA (US EPA, 1994), l'acroléine est considérée comme un gaz de catégorie 1 car il entraîne des effets respiratoires avec une localisation extra-thoracique.

Ainsi, l'ajustement dosimétrique appliqué par défaut pour un gaz de catégorie 1 est la suivante :

$$\text{NOAEC}_{\text{ADJ HEC}} = \text{NOAEC}_{\text{ADJ}} \times \text{Regional Gas Dose Ratio} = \text{NOAEC}_{\text{ADJ}} \times (V_A/S_{A_A})/(V_H/S_{A_H})$$

Avec V_A = taux de ventilation chez le souris = 0,04 m³/j

S_{A_A} = surface de la région extra-thoracique des souris = 3 cm²

V_H = taux de ventilation chez l'Homme = 20 m³/j

S_{A_H} = surface de la région extra-thoracique chez l'Homme = 200 cm²

$$\text{NOAEC}_{\text{ADJ HEC}} = 0,002 \text{ ppm (0,005 mg.m}^{-3}\text{)}$$

- Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR long terme à partir de l'étude de Matsumoto et *al.* (Matsumoto et *al.*, 2021) a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2017) :

- variabilité inter-espèces (UF_A) : 2,5

L'ajustement dosimétrique réalisé a permis de calculer une concentration équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5 selon les recommandations de l'OMS-IPCS (OMS-IPCS, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses (Anses, 2017).

- variabilité interindividuelle (UF_H) : 10

Aucune donnée scientifique permettant de réduire la valeur par défaut n'étant disponible, la valeur de 10 est utilisée.

- utilisation d'un point de départ ($UF_{B/L}$) : 1

La concentration critique est une NOAEC, la valeur de 1 est utilisée.

Un facteur d'incertitude global de 25 est donc utilisé pour la construction de la VTR.

- Proposition de VTR long terme et niveau de confiance

$$\text{VTR} = \text{NOAEC}_{\text{ADJ HEC}} / \text{UF} = 0,2 \text{ }\mu\text{g.m}^{-3} \text{ (8.10}^{-5} \text{ ppm)}$$

Un niveau de confiance global **fort** a été attribué à cette VTR en se basant sur les 4 critères suivants : la nature et la qualité des données (fort), le choix de l'effet critique et le mode d'action (fort), le choix de l'étude clé (fort) et le choix de la dose critique (fort).

3.2.4.VTR cancérogène par inhalation

Choix de l'effet critique

Suite à une exposition chronique à l'acroléine chez le rat, des carcinomes spinocellulaires ont été observés au niveau des voies aériennes supérieures.

Le CES retient comme effet critique l'apparition des carcinomes spinocellulaires au niveau de l'appareil respiratoire supérieur pour des expositions répétées.

Choix de l'hypothèse de construction

L'acroléine est une substance réactive électrophile qui réagit spontanément avec le glutathion intracellulaire ainsi qu'avec les sites nucléophiles des protéines et de l'ADN.

De nombreuses publications montrent de manière cohérente que l'acroléine présente des caractéristiques clés de substances cancérogènes :

- l'acroléine est un aldéhyde α , β -insaturé (énal) fortement électrophile qui réagit facilement avec les bases de l'ADN et les protéines en formant des adduits d'ADN et de protéines *in vivo* et *in vitro*. Parmi ces adduits, les plus étudiés sont les adduits cycliques de la désoxyguanosine, qui sont formés comme une paire de α et γ -régioisomères, α - et γ -hydroxy-1, N2-propano-2'-désoxyguanosine (α - et γ -OH-PdG). L' γ -OH-PdG a été systématiquement détectée chez l'Homme dans divers échantillons (y compris dans les poumons, le foie, le cerveau, la muqueuse urothéliale et la salive), ainsi que chez les animaux de laboratoire, avec des niveaux détectés dépendant de l'espèce, des types de tissus, de l'exposition et des conditions physiologiques ;
- il existe des preuves de formation d'adduits acroléine-ADN chez l'Homme, principalement issues d'études chez des fumeurs. Bien que la fumée de tabac contienne une quantité importante d'acroléine, le CIRC souligne que la faible différence de formation de ces adduits entre les fumeurs et non-fumeurs peut s'expliquer par d'autres sources d'exposition à l'acroléine. Ainsi, les experts du CES soulignent qu'aucune donnée sur la génotoxicité *in vivo* chez l'Homme n'est disponible ;
- dans plusieurs études sur des cellules épithéliales bronchiques humaines en culture primaire ainsi que sur des lignées cellulaires humaines en culture (cellules épithéliales bronchique humaines (BEAS-2B, A549), fibroblastes pulmonaires (IMR-90)), l'acroléine a induit systématiquement des cassures de brins d'ADN, la formation de micronoyaux et des liaisons croisées ADN-protéine ;
- de nombreuses études sur des cellules humaines ont démontré que l'acroléine inhibe directement les protéines impliquées dans les trois voies principales de réparation de l'ADN ;
- ces effets ont été confirmés dans de nombreux systèmes expérimentaux *in vitro*. L'acroléine s'est avérée également induire systématiquement des ruptures de brins d'ADN, des liaisons croisées ADN-protéine, des mutations et des échanges de chromatides sœurs. L'acroléine a induit des résultats positifs au test d'Ames sans activation métabolique (ligne directrice n° 471 : Essai de mutation réverse sur des bactéries). La mutagénicité de l'acroléine a également été démontrée dans des expériences acellulaires utilisant de l'ADN plasmidique (système SupF transfecté dans des cellules humaines) ;
- induction d'un stress oxydant : l'acroléine induit le stress oxydant. Il n'y a pas de données sur cet effet chez l'Homme, mais de nombreuses études conduites *in vitro* sur des cellules humaines ou de mammifères, en culture ont montré que le traitement par l'acroléine produisait des espèces réactives de l'oxygène et induisait une déplétion en glutathion. De même, des études *in vivo* chez des mammifères ont montré que l'administration d'acroléine par diverses voies entraînait une déplétion en glutathion, une peroxydation lipidique et une carbonylation des protéines. Une augmentation statistiquement significative de la concentration de 8-hydroxy-2'-désoxyguanosine (8-OHdG) a été observée dans le parenchyme pulmonaire de rongeurs après exposition à l'acroléine par voie respiratoire ;
- effet immunosuppresseur : l'acroléine a un effet immunosuppresseur *in vitro* sur des cellules humaines se traduisant par une inhibition de la production de cytokines par les lymphocytes et une diminution de la résistance des macrophages alvéolaires humains à l'infection par *Mycobacterium tuberculosis*. De même, *in vivo*, de nombreuses études conduites chez des rongeurs montrent que l'exposition à l'acroléine diminue les défenses immunitaires et augmente la sensibilité aux infections bactériennes ;
- effet pro-inflammatoire : quel que soit le mode d'exposition, l'acroléine produit une réaction inflammatoire des tissus exposés ;
- effets sur la multiplication cellulaire : *in vitro*, l'acroléine a inhibé des gènes suppresseurs de tumeur et activé des proto-oncogènes. *In vivo*, dans toutes les espèces testées, l'inhalation d'acroléine a induit une hyperplasie, une métaplasie et des dysplasies des épithéliums respiratoires. Des effets semblables ont été observés au niveau du pré-estomac, après ingestion, chez les rongeurs ;

- effets épigénétiques : plusieurs études *in vitro* indiquent un effet inhibiteur de l'acétylation de l'ADN par l'acroléine, entraînant une altération de l'assemblage de la chromatine.

En se basant sur la similarité des effets entre l'acroléine et le formaldéhyde (irritations locales suite à une exposition par inhalation, absence d'effets systémiques), l'hypothèse suivante peut être raisonnablement émise : l'effet cancérigène de l'acroléine au niveau de la cavité nasale est induit par le même mécanisme que celui du formaldéhyde. Les effets cancérigènes du formaldéhyde au niveau du nasopharynx sont observés dans un contexte d'expositions répétées à des concentrations élevées, causant préalablement une cytotoxicité se manifestant par des irritations locales. Prévenir ces irritations réduirait ainsi le risque de développement de cancer.

Pour le formaldéhyde et l'acétaldéhyde, les données *in vitro/in vivo* de génotoxicité et de cancérigénicité permettent de poser l'hypothèse argumentée d'un mécanisme à seuil de dose pour la cancérigénicité de ces deux aldéhydes. En revanche, on ne dispose pas des informations correspondantes pour les effets cancérigènes de l'acroléine mais seulement d'un nombre limité d'études *in vivo* chez l'animal sur les paramètres génotoxiques et qui sont généralement négatives.

Le CES recommande donc, en l'absence de données permettant d'établir que les effets cancérigènes de l'acroléine sont à seuil de dose, de faire l'hypothèse, par défaut, de l'absence d'un seuil pour l'acroléine et suggère de réaliser de nouvelles études *in vivo* de génotoxicité et cancérigénicité pour lever cette incertitude.

Construction de la VTR long terme pour les effets cancérigènes

- o Choix de l'étude clé et du point de départ

Une seule étude de cancérigénicité chez l'animal a été identifiée : Matsumoto et *al.* (Matsumoto et *al.*, 2021). Cette étude, décrite précédemment, visait à étudier la cancérigénicité de l'acroléine chez le rat et la souris, mâles et femelles, dans le cadre d'une étude par inhalation de deux ans. Elle renseigne sur la survie, les poids corporels et la caractérisation des lésions néoplasiques et non néoplasiques chez les rats et les souris mâles et femelles.

Bien que l'étude de Matsumoto et *al.* de 2021 soit de bonne qualité, celle-ci ne montre pas d'augmentation de l'incidence de tumeurs pour des concentrations inférieures à la plus forte concentration testée et ces données de cancérigénicité sur deux espèces ne montrent pas de relation dose-réponse. En l'absence de données permettant d'établir que les effets cancérigènes de l'acroléine sont à seuil de dose, le CES considère par défaut une absence de seuil pour l'acroléine. Par ailleurs, à partir de cette étude, il n'est pas possible de dériver un excès de risque unitaire (ERU). Sur la base de ces éléments, le CES conclut qu'il n'est pas possible au regard des données disponibles de construire une VTR sans seuil pour un effet cancérigène de l'acroléine. Afin de pallier ce manque de données adéquates, le CES recommande que des études complémentaires soient réalisées pour obtenir de telles données.

▪ Conclusions et recommandations du CES

Trois VTR ont été élaborées et sont résumées dans le Tableau 1 :

- une VTR court terme : celle élaborée par l'ATSDR, étant de bonne qualité et répondant aux exigences de l'Anses en termes de méthode de construction, est retenue en tant que VTR court terme. Un niveau de confiance fort a été attribué à cette VTR. Le CES attire cependant l'attention sur le fait que cette VTR ne protège pas d'effets liés à d'éventuels pics d'exposition ;
- une VTR moyen terme par voie respiratoire basée sur des lésions de l'épithélium respiratoire supérieur chez des rats. Un niveau de confiance fort a été attribué à cette VTR ;

- une VTR long terme par voie respiratoire basée sur des lésions de l'épithélium respiratoire supérieur chez des rats. Un niveau de confiance fort a été attribué à cette VTR.

Le CES ne propose pas de VTR cancérogène sans seuil pour l'acroléine en l'absence de données adéquates. Des études complémentaires *in vivo* de génotoxicité et cancérogénicité devront être réalisées pour obtenir ces données.

Pour rappel, dans le cadre des VTR et en lien avec les scénarios généralement pris en compte en évaluation des risques sanitaires chez l'Homme, l'Anses distingue trois types de durée d'exposition :

- pour les expositions aiguës, de 1 à 14 jours. Pour les substances irritantes telles que l'acroléine, le CES décide de retenir une durée d'application de 24 heures ;
- pour les expositions subchroniques, de 15 à 364 jours ;
- pour les expositions chroniques, à partir de 365 jours.

Tableau 1 : VTR court, moyen et long termes et cancérigène par voie respiratoire pour l'acroléine

Type de VTR	Organisme	Effet critique (étude clé)	Concentration critique	UF	VTR
VTR court terme	ATSDR (2007)	Irritation nasale et de la gorge, diminution de la fréquence respiratoire Weber-Tschopp et al., 1977 : étude réalisée chez des volontaires sains	LOAEC = 0,3 ppm	100	6,9 µg.m⁻³ (3 ppb)
				UF _H 10 UF _L 10	
VTR moyen terme	Anses (2019)	Lésion de l'épithélium respiratoire supérieur chez des rats Fisher adultes Dorman et al., 2008 : étude 13 semaines chez des rats mâles	LOAEC = 0,6 ppm NOAEC = 0,2 ppm <u>Ajustement temporel</u> NOAEC _{ADJ} = 0,036 ppm (0,08 mg.m ⁻³) <u>Ajustement allométrique</u> NOAEC _{ADJ HEC} = 0,0048 ppm	25	0,44 µg.m⁻³ (0,2 ppb)
				UF _{A-TD} 2,5 UF _H 10 UF _{L/B} 1	
VTR long terme	Anses (2022)	Inflammation de l'épithélium respiratoire et hyperplasie de l'épithélium respiratoire chez les souris femelles Mastumoto et al., 2021 : étude 104 semaines chez le rat et la souris	LOAEC = 0,4 ppm NOAEC = 0,1 ppm <u>Ajustement temporel</u> NOAEC _{ADJ} = 0,018 ppm (0,04 mg.m ⁻³) <u>Ajustement allométrique</u> NOAEC _{ADJ HEC} = 0,002 ppm (0,005 mg.m ⁻³)	25	0,2 µg.m⁻³ (8.10⁻² ppb)
				UF _{A-TD} 2,5 UF _H 10 UF _{L/B} 1	
VTR cancérigène	Anses (2022)	Le CES n'a pas identifié, dans la littérature, de données quantitatives de qualité suffisante sur des expositions chroniques par inhalation permettant de construire une VTR cancérigène malgré l'existence d'effet cancérigène.			

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les propositions de VTR construites pour l'acroléine et les recommandations du CES « Valeurs sanitaires de référence ».

L'Anses note également que de nombreuses travaux *in vitro* et mécanistiques montrent de manière cohérente que l'acroléine présente des caractéristiques clés de substances cancérigènes. Cependant, en l'absence de données *in vivo* concluantes, y compris au vu de la récente étude de Matsumo *et al.* (2021), parue après le ré-examen par le Centre international de recherche sur le cancer, il n'a été possible ni d'identifier un seuil de dose en deçà duquel

l'acroléine ne serait pas cancérigène, ni de déterminer une VTR cancérigène sans seuil. Aussi, l'Agence soutient fortement la recommandation des experts de mener des études complémentaires *in vivo* sur la génotoxicité et cancérigénicité.

L'Agence rappelle qu'une valeur toxicologique de référence (VTR) est un indice toxicologique qui permet de qualifier ou de quantifier un risque pour la santé humaine. Les VTR permettent d'évaluer des effets sanitaires éventuels d'une exposition à des substances. Elles peuvent être utilisées dans le cadre des évaluations quantitatives de risques sanitaires (EQRS) réalisée, à l'échelle populationnelle, dans un contexte d'exposition donné et aider ainsi au choix de mesures de gestion des risques. Elles peuvent être également utilisées pour l'élaboration de valeurs guides telles que les valeurs guides de l'air intérieur (VGAI) : l'Anses a d'ailleurs mené en 2022 cette expertise pour actualiser son avis de 2013 concernant l'acroléine.

L'actualisation des connaissances sur la toxicité de l'acroléine conduit l'Anses à recommander trois VTR par inhalation : une VTR court terme de $6,9 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (durée de 1 à 14 jours), une VTR moyen terme de $0,44 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (durée de 15 jours mais inférieure à un an) et une VTR long terme de $0,20 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (durée supérieure à un an), toutes trois étant établies avec un niveau de confiance fort.

Dr Roger Genet

MOTS-CLÉS

Valeur toxicologique de référence, VTR, acroléine, inhalation, aiguë, court terme, subchronique, moyen terme, chronique, long terme, cancer.

Toxicological reference value, TRV, acrolein, inhalation, acute, short-term, subchronic, mid-term, chronic, long-term, cancer.

CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2022). Avis révisé de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'élaboration de valeur toxicologique de référence (VTR) par voie respiratoire pour l'acroléine (CAS n°107-02-8). (saisine 2021-MPEX-0149). Maisons-Alfort : Anses, 20 p.

ANNEXE 1 : SUIVI DE L'ACTUALISATION DE L'AVIS

Date	Page(s)	Description de la modification
Mars 2022	Partie 1	Ajout d'une explication sur l'actualisation de l'avis
	Partie 2	Actualisation de l'organisation de l'expertise
	Partie 3	<p>Synthèse des données toxicologiques :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Actualisation des § sur la toxicité subchronique et chronique, la génotoxicité, la cancérogénicité et le mécanisme d'action - Ajout d'un § sur les effets sur la reproduction et le développement <p>Élaboration de VTR court, moyen et long termes par inhalation</p> <ul style="list-style-type: none"> - Actualisation de la VTR long terme par inhalation - Ajout d'un § relatif à la VTR cancérogène par inhalation <p>Conclusions et recommandations du CES : actualisation</p>
Août 2022	Partie 4	Actualisation de la partie 4

Valeurs toxicologiques de référence (VTR)

Elaboration de VTR par voie respiratoire pour l'acroléine (CAS n°107-02-8)

Mission permanente « Valeurs toxicologiques de référence »

Saisine « 2021-MPEX-0149 »

Saisines liées n°2020-MPEX-0184, 2008-SA-0205, 2011-SA-0354

**RAPPORT révisé¹
d'expertise collective**

**Comité d'experts spécialisé
« Valeurs sanitaires de référence »**

Mars 2022

¹ Annule et remplace le rapport de novembre 2019. Pour le suivi des modifications (cf. Annexe 1)

Citation suggérée

Anses. (2022). Valeurs toxicologiques de référence (VTR). Elaboration de VTR par voie respiratoire pour l'acroléine (CAS n°107-02-8). (saisine 2021-MPEX-0149). Maisons-Alfort : Anses, 90 p.

Mots clés

Valeur toxicologique de référence, VTR, acroléine, inhalation, aiguë, court terme, subchronique, moyen terme, chronique, long terme, cancer.

Key words

Toxicological reference value, TRV, acrolein, inhalation, acute, short-term, subchronic, mid-term, chronic, long-term, cancer.

Présentation des intervenants

PREAMBULE : Les experts externes, membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

COMITE D'EXPERTS SPECIALISE « VALEURS SANITAIRES DE REFERENCE » (CES VSR) (2021-2023)

Président

M. Fabrice MICHIELS – Médecin du travail / toxicologue au Service de prévention et santé au travail de Corrèze et de Dordogne (SPST 19-24) – Compétences : Médecine du travail, toxicologie

Vice-président

Mme Anne MAITRE – Professeur des Universités – Praticien Hospitalier (PU-PH) au Laboratoire de Toxicologie Professionnelle et Environnementale, CHU de Grenoble ; Responsable de l'équipe « Environnement et prédiction de la santé des populations », Laboratoire TIMC, Université Grenoble Alpes – Compétences : médecine, toxicologie, IBE, métrologie des polluants, hygiène industrielle

Membres

M. Luc BELZUNCES – Directeur de Recherche et Directeur du Laboratoire de Toxicologie Environnementale à l'INRAE – Compétences : Toxicologie générale, Neurotoxicologie, Écotoxicologie, chimie analytique, évaluation des risques

Mme Michèle BISSON – Toxicologue Responsable d'étude à l'INERIS – Compétences : Pharmacien toxicologue, VTR, évaluation des risques sanitaires

Mme Céline BOTINEAU - Ingénieur de prévention du risque chimique au CEA – Compétences : Hygiène industrielle, chimie, évaluation des risques

Mme Anne CHEVALIER – Retraitée de l'Institut de Veille Sanitaire - Compétences : épidémiologie

M. François CLINARD - Épidémiologiste à l'Agence Santé Publique France – Compétences : Pharmacien toxicologue, épidémiologie, évaluation des risques sanitaires

Mme Fatiha EL-GHISSASSI – Scientifique, Programme des Monographies. Evidence Synthesis and Classification Branch. Centre International de Recherche sur le Cancer - Compétences : biochimie spécialiste en cancérogénèse et génotoxicité

M. Claude EMOND – Professeur associé - École de santé publique, Université de Montréal - Département de santé environnementale et santé au travail. – Compétences : Toxicologie, modèle PBPK, toxicocinétique, nanotoxicologie, perturbateurs endocriniens

M. Robert GARNIER – Médecin toxicologue, Paris - Compétences : Toxicologie médicale, santé au travail, santé environnementale

Mme Perrine HOET – Professeur à l'Université Catholique de Louvain. IREC – Compétences : médecine du travail, toxicologie professionnelle et environnementale

M. Kevin HOGEVEEN – Toxicologue, Anses – Fougères, Toxicologie des Contaminants – Compétences : Toxicologie, génotoxicité, hépatotoxicité, toxicologie *in vitro*

Mme Yuriko IWATSUBO – Médecin épidémiologiste à Santé publique France – Compétences : épidémiologie des risques professionnels

M. Frédéric LIRUSSI – Professeur des Universités– Praticien Hospitalier (PU-PH) à l'UFR des Sciences de Santé & CHRU de Besançon - Compétences : Toxicologie Clinique, Toxicologie analytique, Immunité Innée, Reprotoxicité

M. Luc MULTIGNER – Directeur de recherche, INSERM U1085 - IRSET – Compétences : Épidémiologie, Perturbateurs Endocriniens, Pathologies des fonctions et des organes de la reproduction

Mme Nadia NIKOLOVA-PAVAGEAU – Conseiller médical à l'INRS – Compétences : Médecine du travail, toxicologie médicale, IBE

M. Benoît OURY – Responsable d'études à l'INRS – Compétences : Métrologie atmosphérique, Air des lieux de travail, évaluation expositions professionnelles

M. Henri SCHROEDER – Maître de Conférence à la Faculté des Sciences et Technologies de l'Université de Lorraine –Département Neurosciences et Biologie Animale et unité INSERM U1256 Nutrition, Génétique et Exposition aux Risques environnementaux - Pharmacien neurobiologiste - Compétences : Neurotoxicité, polluants Environnementaux, comportement animal, développement cérébral, exposition périnatale

M. Olivier SORG – Chef de groupe de recherche à l'Université de Genève - Compétences : Docteur es science en biochimie, toxicologie expérimentale, dermatotoxicologie

M. Jérôme THIREAU – PhD, Chargé de recherche au CNRS - Compétences : Physiologie animale, électrophysiologie, biologie cellulaire, cardiotoxicité

Mme Maeva WENDREMAIRE – Maître de conférences à l'Université de Bourgogne – Compétences : Toxicologie, reprotoxicité, pharmacologie, toxicologie analytique

COMITE D'EXPERTS SPECIALISE « VALEURS SANITAIRES DE REFERENCE » (CES VSR) (2017-2020)

Président

M. Fabrice MICHIELS – Médecin du travail / toxicologue à l'Association Interentreprises pour la Santé au Travail 19 – Compétences : Médecine du travail, toxicologie

Vice-président

M. Raymond VINCENT - Retraité (anciennement Chargé de mission à la Direction Déléguée aux Applications (INRS)) - Compétences : chimie, métrologie des polluants, évaluation des risques professionnels

Membres

M. Marc BARIL – Professeur associé à l'Université de Montréal – Compétences : Chimiste toxicologue, hygiène industrielle

M. Stéphane BINET – Pharmacien toxicologue à la Direction des Études et Recherches à l'INRS – Compétences : toxicologie générale et industrielle

Mme Michèle BISSON – Responsable d'étude à l'INERIS – Compétences : Pharmacien toxicologue, toxicologie générale

Mme Anne CHEVALIER – Retraitée de l'Institut de Veille Sanitaire - Compétences : épidémiologie

Mme Fatiha EL-GHISSASSI – Scientifique, Section des Monographies du CIRC (IMO). Centre International de Recherche sur le Cancer - Compétences : biochimie spécialiste en cancérogénèse et génotoxicité

Mme Mounia EL-YAMANI – Responsable d'unité à Santé publique France – Compétences : biochimie, toxicologie – démission juin 2019

M. Claude EMOND – Professeur adjoint de clinique à l'Université de Montréal – Compétences : Toxicologie, modèle PBPK, toxicocinétique, nanotoxicologie, perturbateurs endocriniens

M. Rex FITZGERALD – Expert en toxicologie réglementaire au Centre Suisse de Toxicologie Humaine Appliquée - Compétences : toxicologie de la reproduction, neurotoxicité du développement, évaluation des risques humains

M. Robert GARNIER – Médecin toxicologue, Centre antipoison de Paris - Compétences : Toxicologie médicale, médecine du travail

Mme Perrine HOET – Professeur à l'Université Catholique de Louvain. IREC – Compétences : médecine, toxicologie industrielle et environnementale

Mme Yuriko IWATSUBO – Médecin épidémiologiste à Santé publique France – Compétences : épidémiologie des risques professionnels

Mme Cécile KAIRO – Évaluateur de risques sanitaires à Santé publique France - Compétences : Docteur en pharmacie spécialisé en environnement, toxicologie générale et évaluation des risques

Mme Laila LAKHAL – Ingénieur INRA unité Toxalim - Compétences : Toxicologie, métabolisme, perturbateurs endocriniens

M. Frédéric LIRUSSI – Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier (MCU-PH) à l'UFR des Sciences de Santé & CHU de Dijon - Compétences : Toxicologie Clinique, Toxicologie analytique, Immunité Innée, Reprotoxicité

Mme Anne MAITRE – Professeur des Universités – Praticien Hospitalier (PU-PH) au Laboratoire de Toxicologie Professionnelle et Environnementale, CHU de Grenoble ; Responsable de l'équipe « Environnement et prédiction de la santé des populations », Laboratoire TIMC, Université Grenoble Alpes – Compétences : médecine, toxicologie, IBE, métrologie des polluants, hygiène industrielle

Mme Florence PILLIERE – Conseiller médical en toxicologie à l'INRS – Compétences : médecine du travail, toxicologie, IBE – décédée en mars 2019

Mme Anne PLATEL – Maître de conférences à la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille – Laboratoire de Toxicologie Génétique, Institut Pasteur de Lille - Compétences : Toxicologie, Génotoxicité, QSAR

M. Henri SCHROEDER – Professeur associé à la Faculté des Sciences et Technologies de l'Université de Lorraine – Laboratoire CALBINOTOX, EA 7488 - Pharmacien neurobiologiste - Compétences : Neurotoxicité, polluants environne taux, comportement animal, développement cérébral, exposition périnatale

M. Olivier SORG – Chef de groupe de recherche à l'Université de Genève - Compétences : Docteur es science en biochimie, toxicologie expérimentale, dermatotoxicologie

M. Jérôme THIREAU – Chargé de recherche au CNRS - Compétences : Docteur es science, physiologie animale, biologie cellulaire, cardiotoxicité

M. Claude VIAU – Professeur titulaire retraité, actuellement Professeur associé du Département de santé environnemental et santé au travail, École de santé publique à l'université de Montréal – Compétences : Toxicologie, Indicateurs Biologiques d'Exposition, hygiène industrielle, métrologie des polluants

RAPPORTEURS

Mme Perrine HOET – Professeur à l'Université Catholique de Louvain. IREC – Compétences : médecine du travail, toxicologie professionnelle et environnementale

M. Kevin HOGVEEN – Toxicologue, Anses – Fougères, Toxicologie des Contaminants – Compétences : Toxicologie, génotoxicité, hépatotoxicité, toxicologie *in vitro*

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

M. François POUZAUD – Chef de projet scientifique – Anses

Contribution scientifique

Mme Dominique BRUNET – Cheffe de l'Unité d'Évaluation des Valeurs de référence et des Risques des Substances Chimiques (UEVRRiSC) – Anses

Mme Aurélie MATHIEU-HUART – Adjointe à la cheffe de l'Unité d'Évaluation des Valeurs de référence et des Risques des Substances Chimiques (UEVRRiSC) – Anses

M. François POUZAUD – Chef de projet scientifique – Anses

Secrétariat administratif

Mme Patricia RAHYR – Anses

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Sigles et abréviations	10
Liste des tableaux.....	12
Liste des figures	12
1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine.....	13
1.1 Contexte.....	13
1.2 Objet de la saisine.....	14
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation.....	14
1.4 Prévention des risques de conflit d'intérêt	14
2 Informations générales.....	15
2.1 Identification de la substance	15
2.2 Propriétés physico-chimiques	15
2.3 Classification.....	16
2.4 Sources et utilisations	17
2.5 Sources liées au milieu intérieur.....	17
2.6 Sources liées au milieu extérieur.....	18
3 Synthèse des données toxicologiques.....	19
3.1 Toxicocinétique.....	19
3.1.1 Absorption respiratoire.....	19
3.1.2 Distribution	20
3.1.3 Métabolisme.....	20
3.1.4 Excrétion	21
3.2 Toxicité aiguë	21
3.2.1 Effets aigus et subaigus.....	21
3.2.1.1 Données chez l'Homme	21
3.2.1.2 Données chez l'animal	25
3.2.2 Irritation oculaire	27
3.2.3 Autres effets.....	28
3.3 Toxicité subchronique et chronique	30
3.3.1 Données chez l'Homme.....	30
3.3.2 Données chez l'animal.....	32

3.4 Effets sur la reproduction et le développement	38
3.4.1 Données chez l'Homme.....	38
3.4.2 Données chez l'animal.....	38
3.5 Génotoxicité	39
3.6 Cancérogénicité	39
3.7 Mécanismes d'action	45
3.8 Populations sensibles	47
4 Recueil des valeurs toxicologiques de référence	49
4.1 VTR pour des expositions aiguës	51
4.2 VTR pour des expositions subchroniques.....	54
4.3 VTR pour des expositions chroniques	56
5 Proposition de VTR court terme par voie inhalée	61
5.1 Choix de l'effet critique.....	61
5.2 Analyse des VTR court terme existantes	61
6 Proposition de VTR moyen terme par voie inhalée	63
6.1 Choix de l'effet critique.....	63
6.2 Analyse des VTR moyen terme existantes	63
6.3 Choix de l'étude clé et du point de départ.....	63
6.4 Ajustement temporel.....	64
6.5 Ajustement allométrique.....	65
6.6 Choix des facteurs d'incertitude	65
6.7 Proposition de VTR moyen terme par voie respiratoire	65
6.8 Niveau de confiance.....	66
7 Proposition de VTR long terme par voie inhalée	67
7.1 Choix de l'effet critique.....	67
7.2 Analyse des VTR long terme existantes	67
7.3 Construction de VTR.....	67
7.3.1 Choix de l'étude clé.....	67
7.3.2 Choix du point de départ.....	68
7.3.3 Ajustement temporel	68
7.3.4 Ajustement allométrique	68

7.3.5	Choix des facteurs d'incertitude.....	69
7.3.6	Proposition de VTR long terme par inhalation.....	69
7.3.7	Niveau de confiance	69
8	VTR long terme pour les effets cancérigènes par voie inhalée	70
8.1	Choix de l'effet critique.....	70
8.2	Choix de l'hypothèse de construction.....	70
8.1	VTR cancérigène par voie respiratoire	72
9	Conclusions du CES.....	74
10	Bibliographie.....	76
	Annexe 1 : Suivi des actualisations du rapport	84
	Annexe 2 : Valeurs de référence proposées précédemment par l'Anses	85
	Annexe 3 : Recherche bibliographique complémentaire sur la période 2019 → 2021 – mots clés.....	85

Sigles et abréviations

AAL	Acceptable Ambient Level
AAS	Ambient Air Standard
ACGIH	American Conference of Governmental Industrial Hygienists
Afsset	Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail
Anses	Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation environnement travail
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
BMD	Benchmark Dose
BMDL	Limite inférieure de l'intervalle de confiance de la benchmark dose
BMR	Benchmark Response
CE	Commission européenne
CES	Comité d'Experts Spécialisés
CIRC	Centre international de recherche sur le cancer
CITEPA	Centre Interprofessionnel Technique d'Etudes de la Pollution Atmosphérique
CLP	Classification, Labelling, Packaging
DMT	Dose Maximale Tolérée
ECHA	Agence européenne des produits chimiques
ERS	Evaluation de Risques Sanitaires
GT	Groupe de Travail
HEAST	Health Effects Assessment Summary Tables
HEC	Concentration équivalente humaine (= Human Equivalent Concentration)
HSDB	Hazardous Substances Data Bank
INCA	Institut national du cancer
INRS	Institut national de recherche et de sécurité
JBRC	Japan Bioassay Research Center
LOAEC	Lowest Observed Adverse Effect Concentration (= concentration minimale entraînant un effet néfaste observé)
MPR	Maximum Permissible Risk
MRL	Minimal Risk Level
NOAEC	No Observed Adverse Effect Concentration (= concentration maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé)
NTP	National Toxicology Program
OCDE	Organisation de coopération et de développement économiques
OEHHA	Office of Environmental Health Hazard Assessment (Californie - États-Unis)
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PoD	Point de départ

RD50	Dose d'un composé absorbé par voie respiratoire induisant une diminution de 50% de la fréquence respiratoire
RfC	Reference Concentration
SD	Standard Deviation
SNC	Système nerveux central
SNP	Système nerveux périphérique
REACH	enRegistrement, Evaluation et Autorisation des produits Chimiques
REL	Risk Exposure Level
RIVM	The Netherlands National Institute for Public Health and the Environment
TCEQ	Texas Commission on Environmental Quality
TLV	Threshold Limit Value
UF	Facteur d'incertitude (= Uncertainty Factor)
UF _A	Facteur d'incertitude inter-espèces
UF _D	Facteur d'incertitude au manque de données
UF _H	Facteur d'incertitude interindividuel
UF _{H-TK}	Composante toxicocinétique du facteur d'incertitude interindividuel
UF _{H-TD}	Composante toxicodynamique du facteur d'incertitude interindividuel
UF _L	Facteur d'incertitude lié à l'utilisation d'un LOAEL ou d'une BMD
UF _S	Facteur d'incertitude lié à la transposition subchronique à chronique
US EPA	United States Environmental Protection Agency (États-Unis)
VLEP	Valeur limite d'exposition professionnelle
VGAI	Valeur guide de qualité d'air intérieur
VTR	Valeur toxicologique de référence

Liste des tableaux

Tableau 1 : Identification de la substance	15
Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques.....	15
Tableau 3: Classification CLP de l'acroléine	16
Tableau 4 : Exemples de sources d'émission de l'acroléine.....	17
Tableau 5 : Irritation oculaire (Darley <i>et al.</i> , 1960)	22
Tableau 6 : Résumé des effets de l'étude Weber-Tschopp <i>et al.</i> de 1977	23
Tableau 7 : Relation dose-effet mise en évidence dans l'étude de Plotnikova de 1957	24
Tableau 8 : RD50 chez le rat et la souris (US EPA, 2003).....	27
Tableau 9 : Principales études décrivant des effets sur l'appareil respiratoire	34
Tableau 10 : Résumé des études de cancérogénicité	43
Tableau 11 : Tableau récapitulatif des VTR existantes pour l'acroléine	50
Tableau 12 : Valeurs guides de l'OMS proposées pour l'acroléine (OMS, 2000).....	51
Tableau 13 : VTR court terme par inhalation établie par l'ATSDR (2007)	52
Tableau 14 : VTR court terme par inhalation établie par l'OEHHA (2008).....	53
Tableau 15 : VTR moyen terme par inhalation établie par l'ATSDR (2007)	54
Tableau 16 : VTR moyen terme par inhalation établie par l'OEHHA (2008).....	55
Tableau 17 : VTR long terme par inhalation établie par l'US EPA (2003)	57
Tableau 18 : VTR long terme par inhalation établie par l'OEHHA (2008).....	58
Tableau 19 : VTR long terme par inhalation établie par Santé Canada (2000)	59
Tableau 20 : VTR long terme par inhalation établie par l'OMS (2002)	60
Tableau 21 : VTR court, moyen et long termes et cancérogène par voie respiratoire pour l'acroléine	75
Tableau 22 : VGAI court et long termes pour l'acroléine (Anses, 2012).....	85
Tableau 23 : VTR court, moyen et long termes par voie respiratoire pour l'acroléine (Anses, 2020).....	88

Liste des figures

Figure 1 : Métabolisme de l'acroléine (INRS, 2021 ; CE, 2001).....	20
--	----

1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine

1.1 Contexte

Une valeur toxicologique de référence (VTR) est un indice toxicologique qui permet de qualifier ou de quantifier un risque pour la santé humaine. Elle établit le lien entre une exposition à une substance toxique et l'occurrence d'un effet sanitaire indésirable. Les VTR sont spécifiques d'une durée d'exposition (aiguë, subchronique ou chronique) et d'une voie d'exposition (orale, respiratoire, etc.). La construction des VTR diffère en fonction des connaissances ou des hypothèses formulées sur les mécanismes d'action des substances. Actuellement, l'hypothèse par défaut est de considérer une relation entre l'exposition, ou la dose, et l'effet, ou la réponse. En l'état actuel des connaissances et par défaut, on considère généralement que, pour les effets non cancérogènes, la toxicité ne s'exprime qu'au-delà d'un seuil de dose (Anses, 2017).

En pratique, la construction de VTR comprend les quatre étapes suivantes :

- recenser et analyser les données de toxicité disponibles, sur la base d'études épidémiologiques et/ou expérimentales,
- identifier le ou les organes cibles et l'effet critique ;
- identifier l'hypothèse de construction, à seuil ou sans seuil de dose, en fonction du mode d'action de la substance,
- choisir une étude clé de bonne qualité scientifique permettant généralement d'établir une relation dose – réponse ;
- définir un point de départ (PoD) chez l'Homme ou l'animal à partir de cette étude, éventuellement dans le cas d'un PoD obtenu chez l'animal, ajuster ce PoD à l'Homme ;
- pour une VTR à seuil, appliquer des facteurs d'incertitude à ce PoD de manière à dériver une VTR applicable à l'ensemble de la population ;
- pour une VTR sans seuil, réaliser une extrapolation linéaire à l'origine afin de déterminer un excès de risque unitaire².

L'élaboration des VTR suit une approche très structurée et exigeante qui implique des évaluations collectives par des groupes de spécialistes.

² ERU correspond à l'excès de risque d'apparition d'un effet néfaste sur la santé pour des individus exposés durant leur vie (entière ou professionnelle) à une unité de concentration d'exposition (aussi appelé « unité de dose » lorsque cela se rapporte à une concentration biologique) par rapport à des individus non exposés.

1.2 Objet de la saisine

Dans le cadre du programme de travail de la mission d'expertise sur les valeurs guides de qualité d'air intérieur (VGAI) de l'Anses, un travail d'expertise en vue de la fixation de VGAI court et long termes a été réalisé pour l'acroléine (Anses, 2012). La démarche de construction d'une VGAI étant similaire à celle d'une VTR par voie respiratoire, l'Anses a valorisé le travail réalisé en proposant des VTR court, moyen et long termes par inhalation pour l'acroléine (Anses, 2020). Les VGAI et VTR proposées respectivement en 2012 et 2019 sont décrites en Annexe 2.

Suite à la réévaluation du potentiel cancérigène de l'acroléine par le CIRC en 2021 (CIRC, 2021), l'Anses s'est auto-saisie pour évaluer la pertinence de mettre à jour la VTR long terme, au regard des conclusions du CIRC et proposer de nouvelles VTR si pertinent.

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié au comité d'experts spécialisé (CES) « Valeurs sanitaires de référence » (CES VSR) l'instruction de cette auto-saisine en lien avec les précédents travaux d'expertise VTR adoptés par le CES VSR, et VGAI adoptés par le CES « Évaluation des risques liés aux milieux aériens ». Deux rapporteurs issus du CES VSR ont été nommés pour suivre ces travaux. Les travaux d'expertise des rapporteurs ont été soumis régulièrement au CES VSR tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques (8 avril, 2 juillet et 16 décembre 2021 et 28 janvier et 10 mars 2022). Le rapport tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES VSR. Le rapport d'expertise ainsi que l'avis ont été validés par le CES « Valeurs sanitaires de référence » le 10 mars 2022.

Ces travaux sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires. L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

1.4 Prévention des risques de conflit d'intérêt

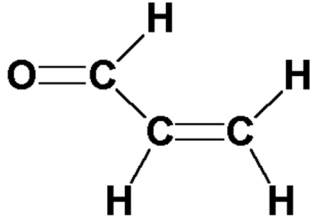
L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

2 Informations générales

2.1 Identification de la substance

Tableau 1 : Identification de la substance

Nom	Acroléine
Numéro CAS	107-02-8
Numéro CE	203-453-4
Synonymes	Acryaldéhyde Allylaldéhyde 2-propenal, prop-2-éнал Aldéhyde acrylique Aldéhyde allylique
Formule	C ₃ H ₄ O
Formule développée	

2.2 Propriétés physico-chimiques

Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques





	Valeur	Référence
Forme physique	Liquide incolore ou légèrement jaunâtre	INRS, 2021
Poids moléculaire	56,06 g.mol ⁻¹	INRS, 2021
Point d'ébullition	53°C à 1013 hPa	INRS, 2021
Point de fusion	- 88°C	INRS, 2021
Pression de vapeur	29,3 kPa à 20°C	CE, 2001 ; INRS 2021
Densité	phase vapeur (par rapport à l'air) : 1,9	INRS, 2021
Point d'éclair (en coupelle fermée)	-26°C	INRS, 2021
Facteurs de conversion	Dans l'air : 1 ppm = 2,29 mg/m ³ à 25°C, 1 ppm = 2,33 mg/m ³ à 20°C Dans les milieux aqueux : 1 ppm = 1 mg/L	CE, 2001 ; INRS, 2021
Solubilité dans l'eau	206-270 g/L à 20°C	CE, 2001 ; US EPA, 2003
Solubilité dans les solvants organiques	Soluble dans l'éthanol, l'éther, l'acétone Faiblement soluble dans le chloroforme	HSDB, 2009
LogKow	- 0,01	US EPA, 2003
Niveau de perception olfactive	0,160 ppm	US EPA, 2003

2.3 Classification

L'acroléine est enregistrée dans le règlement (CE) n°1907/2006 (REACH) et n'est soumise à aucune restriction. Entre 100 et 1000 tonnes par an de cette substance sont produites ou importées dans l'Union Européenne.

Au titre du règlement (CE) n°1272/2008 (CLP), l'acroléine dispose d'une classification harmonisée (ECHA, 2013), présentée dans le Tableau 3.

Tableau 3: Classification CLP de l'acroléine

Numéro INDEX de l'acroléine: 605-008-00-3			
ATP du CLP	Classes et catégories de danger	Mentions de danger	Pictogrammes
ATP06	Flam. Liq. 2 Acute Tox. 2 Acute Tox. 3 Skin Corr. 1B Acute Tox. 1 Aquatic Acute 1 Aquatic Chronic 1	H225 - Liquide et vapeurs très inflammables H330 - Mortel par inhalation H300 - Mortel en cas d'ingestion H311 - Toxique par contact cutané H314 - Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves H410 - Très toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme	 GHS05  GHS02  GHS09  GHS06

En 2021, le CIRC a réévalué l'acroléine et l'a classée comme probablement cancérogène pour l'Homme (groupe 2A) (CIRC, 2021). Le CIRC conclut que les preuves chez l'Homme sont insuffisantes et que les preuves de la cancérogénicité chez l'animal sont suffisantes, en se basant sur une incidence accrue de néoplasmes malins ou d'une combinaison appropriée de néoplasmes bénins et malins chez deux espèces, ainsi que sur des preuves solides que l'acroléine présente plusieurs caractéristiques mécanistiques clés des agents cancérogènes.

La directive 2010/5/UE a modifié la directive 98/8/CE du 16 février 1998 concernant la mise sur le marché des produits biocides afin d'ajouter l'acroléine en tant que substance active à l'Annexe 1 pour les produits antimoisissures (type de produit TP 12).

La circulaire interministérielle du 25 février 2005 relative à la prise en compte des effets sur la santé de la pollution de l'air dans les études d'impact des infrastructures routières indique l'acroléine dans la liste de substances recommandées pour l'évaluation des risques sanitaires liés à ces infrastructures.

2.4 Sources et utilisations

Les sources d'acroléine sont multiples d'origines naturelle ou anthropique (Tableau 4). La principale source endogène repose sur la dégradation de la spermine ou de la spermidine par des amines oxydases et de celle de la thréonine par des myélopéroxydases, ce qui constitue une source d'acroléine significative dans des situations de stress et d'inflammation (Stevens *et al.*, 2008). Les émissions d'acroléine sont principalement liées au processus de combustion de matière organique qu'il soit naturel ou anthropique. Des exemples sont fournis dans le Tableau 4. L'acroléine fait partie des composants volatils d'huiles essentielles extraites de bois de chêne (Santé Canada, 2000).

Tableau 4 : Exemples de sources d'émission de l'acroléine

Sources	Exemples
Naturelles	Fermentation, mûrissement Incendies de forêt Formation endogène
Anthropiques	Combustion : <ul style="list-style-type: none"> • de matières organiques (incinérateurs de déchets, chaudières, foyers, centrales électriques, brûlage des déchets agricoles, cuisson des aliments, ...) • gaz d'échappement des moteurs automobiles • fumée de cigarette • encens, bougies, feux Décomposition photochimique d'autres polluants atmosphériques Sous-produit de la production d'acétate de vinyle

2.5 Sources liées au milieu intérieur

Les sources d'acroléine dans l'environnement intérieur sont multiples et comme indiqué précédemment, résultent principalement du processus de combustion de matières organiques. **La cuisson des aliments, le chauffage domestique au bois et le tabagisme** constituent d'importants émetteurs (Henning *et al.*, 2017). Quelques études ont montré que les produits de consommation nécessitant une combustion, par exemple, les bougies, l'encens et les spirales anti-moustiques peuvent également émettre de l'acroléine (Lin *et al.*, 2008 ; Afsset, 2010).

L'acroléine étant une substance active autorisée par la réglementation européenne sur les produits biocides (cf. paragraphe 2.3), une demande de mise sur le marché pour les produits antimoisissures pourrait être déposée et évaluée au niveau national ; cet emploi pourrait constituer une source supplémentaire d'acroléine dans le milieu intérieur.

2.6 Sources liées au milieu extérieur

L'acroléine a été développée par le chimiste français Charles Moureu comme gaz de combat pendant la première guerre mondiale, avec comme vocation d'être un gaz lacrymogène et incapacitant (Bonnemain *et al.*, 2016).

En Europe, l'acroléine est utilisée uniquement comme intermédiaire de synthèse dans l'industrie chimique (synthèse de la DL-méthionine utilisée comme additif dans l'alimentation animale, synthèse du glutaraldéhyde, etc.). Les émissions des sources industrielles sont très faibles par rapport aux autres sources d'émission (CE, 2001).

Les émissions issues des gaz d'échappement des véhicules représentent la **source de contamination majeure** de l'air. Le trafic routier est le premier contributeur dans les inventaires nationaux d'émissions pour les aldéhydes (CITEPA, 2011). Des facteurs d'émission à l'échappement des véhicules sont d'ailleurs fournis suivant la méthodologie européenne COPERT (COmputer Program to calculate Emission from Road Transport). Les émissions d'acroléine diffèrent selon le type de véhicule (véhicules légers essence et diesel, poids lourd, 2 roues), les systèmes d'allumage et de catalyse.

Par ailleurs, l'acroléine étant produite lors du réchauffement ou de la combustion d'acides gras insaturés, la question se pose de savoir si le développement des biocarburants augmente les émissions d'aldéhydes dans l'air, en particulier d'acroléine. Plusieurs études se sont penchées sur l'évolution des émissions d'aldéhydes en lien avec l'utilisation de biodiesel. Certaines montrent des concentrations plus faibles d'aldéhydes (et d'acroléine) pour le biodiesel par rapport au diesel. Par exemple, Peng *et al.* ont étudié l'influence du biodiesel (B20 : 20 % d'huile de cuisine utilisée – 80 % de diesel) sur les émissions de composés carbonylés dont l'acroléine d'un bus brésilien et ont montré des émissions légèrement plus faibles (de 15,4 à 26,9 mg.bhp⁻¹.h⁻¹)³ pour le biodiesel par rapport au diesel (de 21,3 à 26,9 mg.bhp⁻¹.h⁻¹), à l'exception de l'acroléine pour laquelle les émissions sont proches (respectivement à 0,7 mg.bhp⁻¹.h⁻¹ pour le biodiesel et 0,6 mg.bhp⁻¹.h⁻¹ pour le diesel) (Peng *et al.*, 2008). D'autres études ont montré des résultats différents avec de plus fortes émissions d'acroléine pour plusieurs biodiesels par rapport au diesel (Machado Corrêa et Arbilla, 2008 ; Turrio-Baldassarri *et al.*, 2004 ; Graboski et Mc Cormick, 1998). Graboski et Mc Cormick relie ces résultats aux glycérides du biodiesel.

Enfin, des sources d'émission moins fréquentes concernent la fumée provenant des feux de forêts ou d'habitation.

En dehors de l'Union européenne, l'acroléine est aussi utilisée dans de larges usages biocides (contrôle de la prolifération des microorganismes dans le fuel, etc.) (CE, 2001).

³ Unité exprimée en gramme par kilowatt-heure (grams per brake horsepower-hour (g.bhp.h⁻¹)) correspondant à une unité de consommation par unité de puissance

3 Synthèse des données toxicologiques

Pour l'expertise de 2019, la synthèse des données toxicologiques avait été rédigée sur la base des rapports de synthèse réalisés par des organismes reconnus au niveau international (ATSDR, 2007 ; Ontario Ministry of the Environment, 2009 ; NRC, 2010 ; INRS, 2019 ; Anses, 2014) et complétés par une recherche bibliographique réalisée de 2014 à septembre 2019. Pour l'actualisation de l'expertise en 2019, la synthèse des données toxicologiques s'est appuyée sur des rapports de synthèse récents réalisés par des organismes reconnus au niveau international (INRS, 2021 ; CIRC, 2021) complétés par une recherche bibliographique réalisée jusqu'en novembre 2021. Le détail de cette recherche bibliographique complémentaire est présenté en annexe 3.

3.1 Toxicocinétique

3.1.1 Absorption respiratoire

La distribution locale de l'acroléine au sein de la cavité nasale jusqu'au nasopharynx dépend probablement comme pour les autres gaz très réactifs (catégorie 1), de la surface de contact, de la répartition du flux d'air inspiré dans les différentes zones rencontrées du nez vers le poumon, de la résistance à l'écoulement dans ces différents compartiments (Corley *et al.*, 2012). Une modélisation de type PK/PD, comme proposé par Kimbell et Subramaniam pour le formaldéhyde, permettrait, transposée à l'acroléine, de prédire sa répartition au sein des différents tissus et ainsi, au moins en partie, la localisation des lésions (Kimbell et Subramaniam, 2001). D'après l'étude de Dorman *et al.*, plus la durée d'exposition est longue, plus les lésions s'étendent des zones rostrales vers les zones caudales avec une répartition diffuse et un développement plus lent des lésions, ce qui suggérerait un déplacement « non laminaire » de l'acroléine chez le rat. On déduit également des résultats de cette étude que la gravité des lésions dépend de la concentration d'exposition en acroléine, de la sensibilité différentielle des tissus rencontrés (l'épithélium olfactif étant plus sensible que l'épithélium respiratoire) et que le facteur temps (durée d'exposition) ne joue que sur le niveau d'extension des lésions et le temps nécessaire au recouvrement de l'état initial des tissus (réversibilité des lésions) (Dorman *et al.*, 2008).

L'acroléine est faiblement absorbée par inhalation. Des études menées chez le chien indiquent qu'elle est retenue dans le tractus respiratoire supérieur (75-80 %). Environ 20 % de la concentration inhalée atteignent l'arbre respiratoire inférieur. Par inhalation, l'acroléine réagit directement au point de contact avec l'organisme, notamment avec les groupements thiols du glutathion et les groupements amines primaires et secondaires des protéines et des acides nucléiques. Cette forte réactivité entraîne une absorption limitée (ATSDR, 2007 ; Ontario Ministry of the Environment, 2009 ; NRC, 2010). Des études expérimentales montrent une diminution de la fraction déposée d'acroléine chez le rat avec l'augmentation des concentrations inhalées. Cela a été revu et modélisé dans la publication de Xi *et al.* (Xi *et al.*, 2018). Par ailleurs, l'étude de Sthijns *et al.* portant sur des cellules humaines d'épithélium bronchique montre qu'une exposition répétée à des concentrations micromolaires d'acroléine permet d'augmenter le pool de glutathion intracellulaire par un mécanisme hormétique et pourrait ainsi réduire la cytotoxicité induite par l'acroléine (Sthijns *et al.*, 2014).

3.1.2 Distribution

Du fait de sa grande réactivité au site de contact au niveau respiratoire, une distribution de l'acroléine au niveau systémique est peu attendue. Néanmoins, quelques études récentes sur l'animal exposé à l'acroléine par inhalation ont montré que cette substance pouvait être retrouvée sous forme d'adduits au niveau de plusieurs organes (plasma, système nerveux, coeur, foie, reins, et les muscles) et elle serait impliquée dans de nombreuses pathologies (Moghe *et al.*, 2015 ; Tully *et al.*, 2014).

3.1.3 Métabolisme

Les informations sur le métabolisme de l'acroléine sont limitées. L'acroléine est rapidement métabolisée (Figure 1). Les métabolites résultant de la conjugaison avec le glutathion ont un potentiel toxique fortement réduit par rapport à l'acroléine. Au niveau tissulaire, la principale voie d'élimination est la conjugaison avec le glutathion (GSH). Cette conjugaison serait suivie par un clivage enzymatique des résidus d'acide γ -glutamique et de glycine puis d'une N-acétylation. L'aldéhyde obtenu subit alors soit une réduction pour former l'acide S-(3-hydroxypropyl)mercapturique (HPMA), le principal métabolite retrouvé dans les urines, soit une oxydation pour former l'acide S-(2-carboxyéthyl)mercapturique (CEMA) (Stevens et Maier, 2008). D'autres voies métaboliques minoritaires existent. *In vitro* sur des fractions de microsomes hépatiques, l'acroléine peut être oxydée en acide acrylique. Elle peut aussi, en présence des fractions de microsomes pulmonaires ou hépatiques, être époxydée en glycidaldéhyde instable qui peut soit réagir avec de l'eau pour former du glycéraldéhyde, soit former un conjugué avec le GSH (Stevens et Maier, 2008).

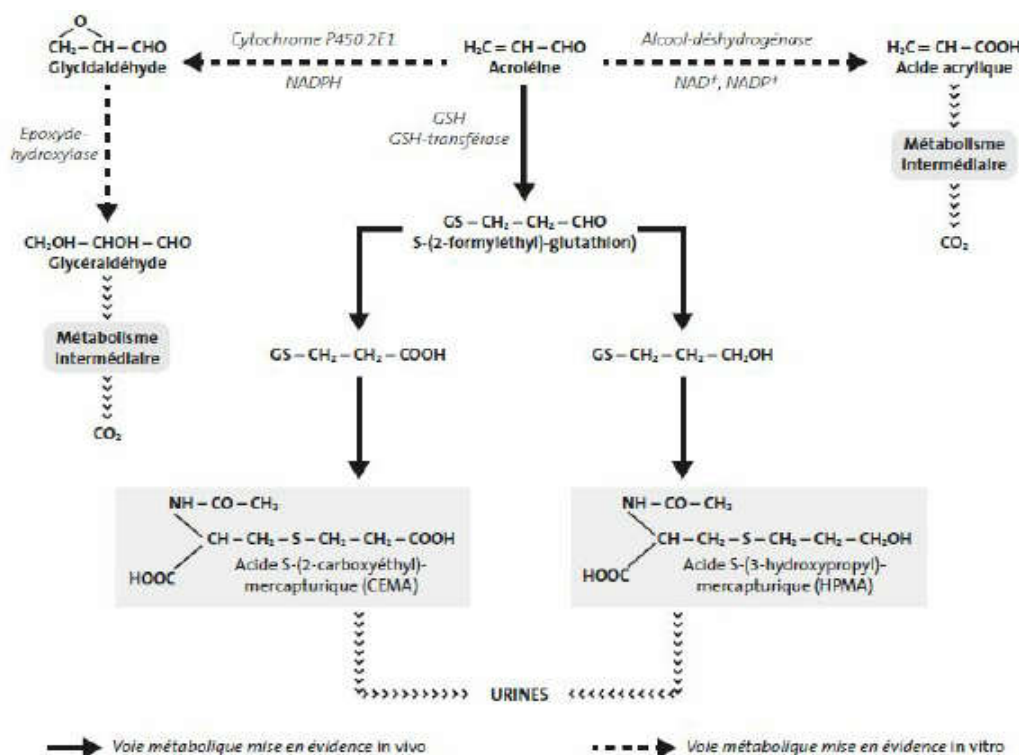


Figure 1 : Métabolisme de l'acroléine (INRS, 2021 ; CE, 2001)

3.1.4 Excrétion

Les métabolites sont retrouvés principalement dans les urines. L'acroléine peut également être éliminée sous forme de CO₂ ou par les fèces mais les métabolites fécaux ne sont pas connus. Il s'agirait de polymères d'acroléine ou d'adduits polysaccharidiques ou protéiniques dus à la réaction de l'acroléine avec les aliments dans le tractus gastro-intestinal (INRS, 2021 ; NRC, 2010).

3.2 Toxicité aiguë

3.2.1 Effets aigus et subaigus

3.2.1.1 Données chez l'Homme

Les informations concernant les **effets létaux** dus à l'inhalation d'acroléine sont limitées. Des données anciennes (Prentiss, 1937 cité dans Ontario Ministry of the Environment, 2009) ont rapporté un décès suite à une exposition d'une durée de 10 min à 150 ppm d'acroléine (350 mg.m⁻³). Plusieurs cas cliniques liés à une exposition accidentelle ont été décrits. Le premier est celui d'un enfant de 27 mois hospitalisé pour insuffisance respiratoire aiguë suite à une exposition d'environ une heure à de probables concentrations d'acroléine (et d'autres substances) provenant de fumées d'huiles végétales brûlant sur une plaque électrique chaude. L'enfant était cyanosé avec une respiration pénible et crépitante et présentait une acidose respiratoire sévère. Dix-huit mois après l'exposition, un épaississement des bronches, une distension bronchique, un emphysème et une broncheectasie étaient encore observés (Mahut *et al.*, 1993 cité dans OEHHA, 2008).

Un second cas est celui d'un enfant de 4 ans et demi également hospitalisé pour une défaillance respiratoire aiguë avec obstruction de la trachée et de multiples infarctus pulmonaires suite à l'inhalation pendant 2 heures de vapeurs d'acroléine issues d'une poêle surchauffée (concentration inconnue) (Gosselin *et al.*, 1979 cité dans NRC, 2010). L'autopsie chez l'enfant le plus âgé a indiqué une desquamation cellulaire massive au niveau des bronches, des débris cellulaires dans la lumière bronchique et de multiples infarctus pulmonaires (Gosselin *et al.*, 1979 cité dans OEHHA, 2008 et NRC, 2010).

L'**irritation oculaire** est l'effet le plus souvent décrit chez l'Homme après une exposition aiguë à l'acroléine. Les données disponibles sont toutefois en large majorité issues de travaux relativement anciens (Sim et Pattle, 1957 cité dans US EPA, 2003 ; Weber-Tschopp *et al.*, 1977 ; Darley *et al.*, 1960 ; Stephens *et al.*, 1961 cité dans Ontario Ministry of the Environment, 2009).

Des volontaires sains (36 étudiants volontaires, 26 hommes et 10 femmes) ont été exposés « en aveugle » par séquences de 5 minutes à 0,06 ; 1,3-1,6 et 2,0-2,3 ppm d'acroléine (0,14 ; 3,0-3,7 et 4,7-5,4 mg.m⁻³) (Darley *et al.*, 1960). Afin que seuls les yeux soient exposés, les volontaires portaient un appareil de protection respiratoire (charbon actif). Toutes les 30 secondes, les volontaires ont évalué l'intensité de leur irritation oculaire (nulle = 0, moyenne = 1, sévère = 2) afin de déterminer un score d'irritation et d'évaluer la relation dose-réponse. La LOAEC (Lowest Observed Adverse Effect Concentration) pour l'irritation oculaire a été estimée à 0,06 ppm (140 µg.m⁻³) pour une exposition de 5 minutes. Une irritation oculaire modérée à sévère a été rapportée chez les volontaires exposés 5 min à 1,3 ppm (3 mg.m⁻³) (Tableau 5).

Tableau 5 : Irritation oculaire (Darley *et al.*, 1960)

	Concentration (ppm)	Irritation oculaire (score moyenné)
Air filtré	0	0,361
	0	0,265
	0	0,088
Acroléine	0,06	0,0471
	1,3-1,6	1,182
	2,0-2,3	1,476

Weber-Tschopp *et al.* ont effectué 3 tests chez des volontaires sains (étudiants). Dans le premier test, des volontaires (31 hommes, 22 femmes) ont été exposés de manière continue à des niveaux croissants de vapeurs d'acroléine (0 à 0,6 ppm) pendant 35 minutes, puis pendant 5 minutes à une concentration constante de 0,6 ppm (1,4 mg.m⁻³). Dans le second test, 42 étudiants (17 hommes, 25 femmes) ont été exposés de manière discontinue (5 fois pendant 1,5 min avec 8 min entre chaque exposition) à plusieurs concentrations d'acroléine : 0 – 0,15 – 0,3 – 0,45 et 0,60 ppm (0 – 0,35 – 0,70 – 1,0 – 1,4 mg.m⁻³). Enfin, dans le dernier test, 46 étudiants (21 hommes, 25 femmes) ont été exposés à une concentration constante de 0,3 ppm (0,70 mg.m⁻³) pendant 60 minutes. L'irritation nasale, oculaire et pharyngée a été évaluée de façon subjective. La fréquence de clignement des yeux et la fréquence respiratoire ont également été mesurées (Weber-Tschopp *et al.*, 1977).

Suite à l'exposition continue à des concentrations croissantes en acroléine, une irritation oculaire importante a été rapportée au bout de 5 minutes à 0,09 ppm (0,21 mg.m⁻³) ($p < 0,01$) et une augmentation de la fréquence de clignement des yeux à 0,26 ppm (0,61 mg.m⁻³) a été observée au bout de 15 minutes (expérience A). Une exposition discontinue a entraîné une sensation d'irritation oculaire à partir de 0,3 ppm (0,70 mg.m⁻³) (Tableau 6).

Une concentration constante de 0,3 ppm (0,70 mg.m⁻³) a entraîné une sensation d'irritation oculaire dont l'intensité augmentait rapidement les 20 premières minutes et atteignait un plateau au bout de 40 minutes (expérience C). Après 10 minutes, un doublement des clignements des yeux a été observé chez 66 % des sujets (Weber-Tschopp *et al.*, 1977).

Tableau 6 : Résumé des effets de l'étude Weber-Tschopp *et al.* de 1977

Expérience	N	Exposition (chambre d'inhalation)	Résultats évalués par questionnaires remplis toutes les 5 minutes
A	54	Concentrations croissantes de 0 à 0,6 ppm pendant 35 minutes puis 0,6 ppm pendant 5 minutes	<p>≥ 0,09 ppm : inconfort, irritation oculaire subjective</p> <p>≥ 0,15 ppm : irritation nasale subjective</p> <p>De 0,26 ppm à 0,3 ppm : doublement des clignements des yeux</p> <p>0,6 ppm : ↘ fréquence respiratoire</p>
B	42	4 expositions de 1,5 minutes avec des concentrations croissantes de 0,15 ; 0,3 ; 0,45 et 0,6 ppm avec 8 minutes de latence entre 2 expositions	<p>≥ 0,15 ppm : inconfort</p> <p>≥ 0,3 ppm : irritation oculaire subjective</p> <p>≥ 0,45 ppm : irritations nasale et de la gorge subjectives</p>
C	46	Concentration constante de 0,3 ppm pendant 60 minutes	<p>Inconfort ↗ en 20-30 minutes puis reste constant</p> <p>Irritations oculaire et nasale subjectives commencent après 10-20 min puis constantes après 40 minutes</p> <p>Irritation subjective de la gorge ↗ légèrement puis atteint un plateau à 40 minutes</p> <p>De 17 à 38 clignements/minute puis constant</p> <p>Fréquence respiratoire ↘ doucement puis significativement après 40 minutes, pas de modification majeure après une longue exposition</p>

Une augmentation de la fréquence de clignement des yeux a également été mise en évidence dans une autre étude, suite à une exposition de 30 minutes à 0,34 mg.m⁻³ d'acroléine (0,15 ppm) (Van Eick, 1977 cité dans Ontario Ministry of the Environment, 2009).

Sim et Pattle ont exposé 12 hommes volontaires à 0,805 ppm (1,9 mg.m⁻³) pendant 10 minutes et 12 autres à 1,22 ppm (2,8 mg.m⁻³) pendant 5 minutes. Dans les 2 cas, l'exposition a été à peine supportable et a déclenché une irritation oculaire et des larmoiements en 20 secondes pour l'exposition à 0,805 ppm et en 5 secondes pour celle de 1,22 ppm (Sim et Pattle, 1957 cité dans INERIS, 2008a ; Ontario Ministry of the Environment, 2009).

D'autres effets oculaires ont également été rapportés :

- une augmentation de la sensibilité à la lumière suite à une exposition pendant 10 minutes à 0,6 mg.m⁻³ (0,26 ppm) (Plotnikova, 1957 cité dans Ontario Ministry of the Environment, 2009) ;
- une faible irritation conjonctivale (évaluation non spécifiée) suite à une exposition pendant 3 minutes à 1 mg.m⁻³ (0,43 ppm) (Plotnikova, 1957 cité dans Ontario Ministry of the Environment, 2009) ;
- une augmentation du volume des larmes et une modification du pH et de l'activité des lysozymes dans les larmes (Harada, 1977 cité dans Ontario Ministry of the Environment, 2009).

Des **effets sur l'arbre respiratoire** ont également été observés chez l'Homme. Champeix *et al.* ont rapporté le cas d'un employé de 36 ans d'une usine chimique intoxiqué accidentellement à des

vapeurs d'acroléine (concentration inconnue). Celui-ci présentait, 20 heures après l'exposition, un syndrome pulmonaire sur-aigu avec une dyspnée marquée, une sensation d'oppression thoracique, une cyanose et une toux accompagnée d'expectorations spumeuses. Dix-huit mois après l'accident, il présentait encore une pneumopathie chronique et une dyspnée persistante (Champeix *et al.*, 1966 cité dans INERIS, 2008a ; ATSDR, 2007 ; NRC, 2010). Bauer *et al.* décrivent des effets respiratoires similaires chez un homme de 21 ans exposé à des vapeurs issues d'une casserole surchauffée pendant 6 h (Bauer *et al.*, 1977 cité dans NRC, 2010).

Dans l'étude de Weber-Tschopp *et al.*, décrite ci-dessus, une exposition continue à des concentrations croissantes d'acroléine a entraîné, au bout de 10 minutes une irritation nasale subjective (0,15 ppm, soit 0,35 mg.m⁻³) et, au bout de 35 minutes, une diminution significative de la fréquence respiratoire (0,6 ppm, soit 1,4 mg.m⁻³). Lorsque l'exposition était discontinuée, une irritation de la gorge était rapportée à partir de 0,45 ppm (1,0 mg.m⁻³) et une irritation nasale à partir de 0,6 ppm. Une exposition constante à 0,7 mg.m⁻³ (0,3 ppm) a entraîné une sensation d'irritation nasale qui a augmenté rapidement pendant les 20 premières minutes et atteint un plateau au bout de 40 minutes. Après 10 minutes, une diminution de la fréquence respiratoire de 10 % a été observée chez 47 % des volontaires (Weber-Tschopp *et al.*, 1977).

Un larmoiement a été observé après 20 secondes chez des hommes volontaires exposés à 1,9 mg.m⁻³ (0,82 ppm) et après 5 secondes chez ceux exposés à 2,8 mg.m⁻³ (1,2 ppm) (Sim et Pattle, 1957 cité dans NRC, 2010).

Plotnikova a rapporté une sensation de brûlure au niveau du nez chez des volontaires exposés 3 minutes à 1 mg.m⁻³, des modifications du rythme et de l'amplitude des mouvements respiratoires à 1,5 mg.m⁻³ (3 minutes) et une irritation nasale aiguë (mesure non spécifiée) et des douleurs au niveau du nasopharynx à 4 mg.m⁻³ (2-3 minutes) (Plotnikova, 1957 cité dans Ontario Ministry of the Environment, 2009) (Tableau 7).

Tableau 7 : Relation dose-effet mise en évidence dans l'étude de Plotnikova de 1957

Concentration en acroléine	Durée d'exposition	Effets
1 mg.m ⁻³	3 minutes	sensation de brûlure au niveau du nez
1,5 mg.m ⁻³	3 minutes	modifications du rythme et de l'amplitude des mouvements respiratoires
4 mg.m ⁻³	2-3 minutes	irritation nasale aiguë (mesure non spécifiée) et des douleurs au niveau du nasopharynx

Dans l'étude de Dwivedi *et al.*, les auteurs ont exposé en continu des volontaires sains (9 hommes, âge moyen de 23 ans (20-26 ans) et 9 femmes, âge moyen de 25 ans (21-38 ans)) à des concentrations d'acroléine de 0 ppm (air), 0,05 ppm et 0,1 ppm en chambre d'inhalation pendant deux heures, avec ou sans agent masquant l'odeur (acétate d'éthyle). Plusieurs symptômes ont été évalués de façon subjective : irritation nasale, oculaire et pharyngée, effets sur le système nerveux central (maux de tête, fatigue, nausée, vertige, odorat, « sensation d'intoxication »). La fréquence de clignement des yeux, des paramètres de la fonction respiratoire, des paramètres évaluant l'irritation de la cavité nasale (oedème et des marqueurs de l'inflammation (dans le sang et dans les

expectorations pulmonaires) ont également été mesurés. Suite à l'exposition en continu à l'acroléine, une augmentation de la sensation d'irritation oculaire (mesure subjective) statistiquement significative ($p < 0,001$) a été observée à 0,05 ppm et 0,1 ppm par rapport au contrôle (air) après 118 min d'exposition. Aucune augmentation de la sensation d'irritation de la gorge, ni aucun autre symptôme indiquant un effet toxique sur le SNC, n'a été décrit par les volontaires. A la concentration de 0,1 ppm, une augmentation statistiquement significative ($p < 0,049$) de la fréquence de clignement des yeux a été observée dans les dernières 20 minutes de l'exposition (intervalle de mesure 100-120 min) comparée aux 20 premières minutes de l'exposition (intervalle de mesure 0-20 min). Aucun effet de l'exposition à l'acroléine aux concentrations testées n'a induit de modification des paramètres de la fonction respiratoire ou de la cavité nasale.

Les marqueurs de l'inflammation et de coagulation du sang n'ont pas été affectés par l'exposition à l'acroléine aux concentrations testées (Dwivedi *et al.*, 2015).

3.2.1.2 Données chez l'animal

Les données expérimentales indiquent que la toxicité respiratoire aiguë est la principale cause de mortalité suite à une exposition à l'acroléine (obstructions bronchiques, œdème pulmonaire, hémorragie) et montrent une relation inverse entre la concentration et le délai de survenue du décès suite à une exposition aiguë à l'acroléine (ATSDR, 2007). Les CL_{50} sont de 18 à 21 $mg.m^{-3}$ chez le rat exposé 4 heures, de 151 $mg.m^{-3}$ chez la souris exposée 6 heures, de 58 $mg.m^{-3}$ chez le cobaye exposé 4 heures et de 344 $mg.m^{-3}$ chez le chien exposé 30 minutes (INRS, 2021 ; CE, 2001 ; Ontario Ministry of the Environment, 2009).

De fortes concentrations ont induit, chez le rat, des perturbations de la coordination motrice, des convulsions ($> 1214 mg.m^{-3}$), une baisse de la fréquence cardiaque, une diminution de la pression sanguine (2500-5000 $mg.m^{-3}$), une cyanose des extrémités ($> 22900 mg.m^{-3}$) et une asphyxie (INRS, 2021).

A des concentrations plus faibles, l'acroléine a induit des effets locaux oculaires ou/et respiratoires. Les effets oculaires étaient qualitativement similaires à ceux observés chez l'Homme. Lyon *et al.* ont montré que l'acroléine (4,12 - 8,47 $mg.m^{-3}$) entraînait des irritations oculaires chez le chien et le singe. Le rat et le cobaye semblent moins sensibles (absence d'effet notable à 8,47 $mg.m^{-3}$) (Lyon *et al.*, 1970). D'autres études mettent également en évidence un larmolement chez des animaux exposés à l'acroléine (Murphy *et al.*, 1964 ; Skog, 1950 cités dans Ontario Ministry of the Environment, 2009).

De nombreuses études expérimentales décrivent l'acroléine comme un toxique respiratoire important. Une irritation nasale, une inflammation nasale et pulmonaire, des difficultés respiratoires ainsi que des lésions de l'arbre respiratoire et des poumons ont été observées. Des modifications histologiques au niveau de la cavité nasale, de l'épithélium respiratoire, des poumons, des bronches ou de la trachée ont été mises en évidence chez le rat (Kutzman *et al.*, 1984 et 1985 ; Cassee *et al.*, 1996a ; Skog, 1950 ; Murphy *et al.*, 1964 ; Catilina *et al.*, 1966 ; Potts *et al.*, 1978 ; Leach *et al.*, 1987 ; Ballantyne *et al.*, 1989 cités dans ATSDR, 2007, US EPA 2003 et Ontario Ministry of the Environment, 2009 ; Sun *et al.*, 2014 ; Snow *et al.*, 2017), la souris (Buckley *et al.*, 1984), le hamster (Kilburn & McKenzie, 1978 cité dans US EPA, 2003), le cobaye (Dahlgren *et al.*, 1972 ; Jousserandot

et al., 1981 ; Leikauf *et al.*, 1992, Turner *et al.*, 1993 cités dans US EPA 2003 et Ontario Ministry of the Environment, 2009), le chien (Hales *et al.*, 1988 cité dans Ontario Ministry of the Environment, 2009) et le lapin (Beeley *et al.*, 1986 cité dans US EPA, 2003). Les modifications observées sont principalement :

- une dégénérescence de l'épithélium respiratoire et olfactif (perte de cils, exfoliation, désorganisation, desquamation, nécrose, ulcération, sécrétion muqueuse, vacuolisation épaississement, hyperplasie des cellules basales, métaplasie squameuse) ;
- des réactions inflammatoires aiguës (infiltration de leucocytes dans la muqueuse, hyperhémie, hémorragies et œdème intercellulaire).

Une exposition de 0,7 à 39 mg.m⁻³ d'acroléine (0,30 - 17 ppm) chez la souris, le rat et le cobaye a entraîné des modifications fonctionnelles telles qu'une vasodilatation, une augmentation rapide et réversible puis une décroissance de la fréquence respiratoire, une augmentation du volume courant et une diminution du réflexe inspiratoire par activation des terminaisons nerveuses sensorielles dans la muqueuse nasale (Murphy *et al.*, 1963 ; Davis *et al.*, 1967 ; Kane et Alarie, 1977 ; Nielsen *et al.*, 1984 ; Leikauf *et al.*, 1989 et 1992 cités dans ATSDR, 2007 et Santé Canada et Environnement Canada, 2000 ; Alarie, 1973 ; Buckley *et al.*, 1984 ; Steinhagen et Barrow, 1984 ; Morris *et al.*, 1999 ; Morris *et al.*, 2003 ; Bein et Leikauf, 2011).

L'irritation sensorielle peut être quantifiée en mesurant la diminution de la fréquence respiratoire suite à l'inhalation de différentes concentrations d'un irritant. La mesure du RD50, concentration qui entraîne une diminution de 50 % de la fréquence respiratoire, est communément utilisée pour prédire l'irritation sensorielle chez l'Homme. Un RD50 a été déterminé entre 1,03 et 2,9 ppm (2,4 – 6,8 mg.m⁻³) chez la souris et entre 4,6 à 9,2 ppm (11 - 21 mg.m⁻³) chez le rat (US EPA, 2003 ; Cassee *et al.*, 1996a et c) (Tableau 8). La fréquence respiratoire, diminuée suite à l'exposition à l'acroléine, revient à la normale rapidement, habituellement dans les 10 minutes. Ainsi, Cassee *et al.* ont rapporté que 24 heures après une exposition de rats Wistar à 1,7 – 11,1 et 31,9 ppm (3,9 – 25,4 et 73 mg.m⁻³), les paramètres respiratoires étaient comparables à ceux antérieurs à l'exposition indiquant que l'effet n'est pas persistant (Cassee *et al.*, 1996b).

Tableau 8 : RD50 chez le rat et la souris (US EPA, 2003)

Espèces	RD50	Référence
Rats F-344 (mâle)	6 ppm (14 mg.m ⁻³)	Babiuk <i>et al.</i> , 1985
Rats Wistar (mâle)	4,6 ppm (11 mg.m ⁻³)	Bergers <i>et al.</i> , 1996
Rats Wistar (mâle)	9,2 ppm (21 mg.m ⁻³)	Cassee <i>et al.</i> , 1996a et c
Souris Swiss-Webster (mâle)	1,7 ppm (4,0 mg.m ⁻³)	Kane et Alarie, 1977
Souris Ssc :CF-1 (mâle)	2,9 ppm (6,8 mg.m ⁻³)	Nielsen <i>et al.</i> , 1984
Souris B6C3F1 (mâle)	1,41 ppm (3,3 mg.m ⁻³)	Steinhagen et Barrow, 1984
Souris Swiss-Webster (mâle)	1,03 ppm (2,4 mg.m ⁻³)	Steinhagen et Barrow, 1984

L'augmentation de la sécrétion de mucus est une réponse normale à l'exposition à des irritants respiratoires. Cependant, l'hypersécrétion bronchique est impliquée dans le développement de pathologies respiratoires obstructives chroniques. Borchers *et al.* ont montré que l'exposition de rats Sprague Dawley mâles à 3 ppm (7 mg.m⁻³) d'acroléine pendant 2 semaines (6 heures/jour, 5 jours/semaine) était associée à l'hypersécrétion de mucus observée sur des préparations de trachée isolée des rats traités où a été mise en évidence une augmentation de l'expression des gènes impliqués dans la production de mucines (Borcher *et al.*, 1998 cité dans OEHHA, 2008 et US EPA, 2003). La même équipe a exposé des souris mâles FVB/N à 3 ppm (7,0 mg.m⁻³) d'acroléine pendant 3 semaines (6 heures/jour, 5 jours/semaine) et a mis en évidence une augmentation significative et persistante des macrophages dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire ; cette accumulation de macrophages induite par l'acroléine était associée à une hypersécrétion de mucus (Borchers *et al.*, 1999b cité dans OEHHA, 2008 et US EPA, 2003).

L'hyperréactivité bronchique est une caractéristique des maladies réactives des voies aériennes telles que l'asthme et pourrait être induite par des irritants respiratoires tels que l'acroléine. Ainsi, une hyperréactivité bronchique a été observée chez des cobayes (*Cavia porcellus*) exposés à 1,3 ppm (3,0 mg.m⁻³) d'acroléine pendant 2 heures (maximale en 2 heures et persistante après 24 heures d'exposition). Cette exposition était accompagnée d'une augmentation des médiateurs lipidiques bronchoconstricteurs (thromboxane B2, prostaglandine F2 α , leucotriènes) immédiatement après l'exposition et a retardé l'afflux de neutrophiles (Leikauf *et al.*, 1989a et b ; Leikauf, 1991 cités dans US EPA, 2003 et OEHHA, 2008).

3.2.2 Irritation oculaire

Les effets oculaires observés dans les études animales sont qualitativement similaires à ceux observés chez l'Homme. L'exposition chronique à des vapeurs d'acroléine (1,8-3,7 ppm) entraîne des irritations oculaires chez le chien et le singe se manifestant par des larmoiements et la fermeture des yeux. Les rats et les cobayes semblent moins sensibles (Lyon *et al.*, 1970 cité dans ATSDR, 2007 ; US EPA, 2003). Des études chez le lapin, exposés à des vapeurs d'acroléine rapportent des effets comparables (Dachir *et al.*, 2015).

3.2.3 Autres effets

Daimon *et al.* ont montré que les niveaux urinaires d'« adduits acroléine » étaient significativement augmentés chez les personnes présentant un diabète de type 2 par rapport aux non diabétiques ($2,316 \pm 0,221$ vs $2,051 \pm 0,201$ log(nmol/mg de créatinine), $p < 0,001$) et étaient significativement corrélés aux niveaux de glycémie (Daimon *et al.*, 2003). Dans ce sens, il a été montré que l'hydralazine (un agent neutralisant l'acroléine) chez le rat peut prévenir la neuropathie diabétique douloureuse et l'inflammation induite par la streptozotocine (Yao *et al.*, 2017).

Les effets irritants pourraient être accentués chez les personnes sensibilisées. Roux *et al.* ont étudié l'interaction entre la sensibilisation passive et l'exposition *in vitro* à l'acroléine de voies respiratoires humaines. Les auteurs rapportent qu'une sensibilisation passive *in vitro* et l'exposition à l'acroléine agissent de manière synergique sur la réactivité du muscle bronchique, en réponse à des agonistes spécifiques et non spécifiques. Sur des tissus pulmonaires sensibilisés par une incubation dans du sérum de patients asthmatiques, une pré-exposition à $0,3 \mu\text{M}$ d'acroléine pendant 10 minutes a augmenté la réponse contractile maximale à un antigène de *Dermatophagoides pteronyssinus*. La sensibilisation passive et l'exposition à l'acroléine interagissent de manière synergique sur la réactivité du muscle lisse bronchique en réponse à un antigène spécifique et à des agonistes non spécifiques. Les auteurs concluent que l'acroléine exacerbe potentiellement l'asthme (Roux *et al.*, 1999).

Morris *et al.* ont exposé 10 minutes des souris C57B1/6J à de l'ovalbumine puis à $0,3 - 1,6$ ou $3,9$ ppm d'acroléine ($0,70 ; 3,1$ ou $9,1 \text{ mg.m}^{-3}$), ce qui a provoqué une exacerbation de la réponse des symptômes induite par l'acroléine seule. Chez les souris sensibilisées par de l'ovalbumine, une plus faible concentration d'acroléine est suffisante pour provoquer une modification de la fréquence respiratoire par rapport à des souris non allergiques (Morris, *et al.*, 2003).

Plusieurs indicateurs de stress oxydant ont été observés chez des rats exposés pendant 4 heures à 1 ppm ($2,33 \text{ mg.m}^{-3}$) d'acroléine dont une diminution des niveaux pulmonaires en acide ascorbique, alpha-tocophérol, glutathion, thiols, enzyme convertissant l'angiotensine, lactase, lactate deshydrogénase, catalase, glutathion peroxydase et une augmentation de diènes conjugués, superoxyde dismutase et TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances) (Arumugan *et al.*, 1999 cité dans ATSDR, 2007). Lam *et al.* ont observé une diminution dose-dépendante de la concentration en glutathion dans la muqueuse nasale de rats exposés 3 heures à $0,1$ à $2,5$ ppm ($0,23$ à $5,8 \text{ mg.m}^{-3}$) (Lam *et al.*, 1985).

Plusieurs études chez la souris suggèrent que l'acroléine pourrait inhiber les défenses immunitaires pulmonaires. Astry et Jakab ont observé une diminution dose-dépendante des défenses immunitaires contre *Staphylococcus aureus* chez des souris Swiss femelles exposées pendant 8 h à 3 et 6 ppm ($7,0$ et 14 mg.m^{-3}) (Astry et Jakab, 1983). Aranyi *et al.* ont mis en évidence une réduction de l'activité bactéricide (vis-à-vis de *Klebsiella pneumoniae*) chez des souris CD1 exposées 5 jours consécutifs (3 heures/jour) à $0,1$ ppm ($0,23 \text{ mg.m}^{-3}$) (Aranyi *et al.*, 1986 cité dans OEHHA, 2008 et US EPA, 2003).

Des rats mâles Wistar, exposés de 4 à $2\ 181$ ppm d'acroléine ($9,3 - 5\ 082 \text{ mg.m}^{-3}$) pendant 1 minute, présentaient une augmentation significative de la pression artérielle et du rythme cardiaque à partir de 50 mg.m^{-3} (US EPA, 2003).

Thompson *et al.* ont exposé, par inhalation corps entier, des souris mâles C57B1/6 (n = 6/concentration) à une concentration de 0,3 ppm ou 3 ppm d'acroléine pendant 3 heures. Suite à cette exposition aiguë, l'acroléine a induit :

- une diminution de la fréquence respiratoire à la concentration de 3 ppm ($30 \pm 16\%$ par rapport au contrôle, $p < 0,05$). Cet effet n'était pas observé à la concentration de 0,3 ppm ;
- une augmentation du volume courant à la concentration de 3 ppm ($23 \pm 6\%$ par rapport au contrôle, $p < 0,05$). Cet effet n'était pas observé à la concentration de 0,3 ppm ;
- une diminution du volume total inhalé à la concentration de 3 ppm (46% et 40 % ($p < 0,05$) par rapport à la concentration de 0,3 ppm et le contrôle, respectivement) ;
- une augmentation de la glutathion peroxydase (marqueur de l'inflammation) mesurée dans le fluide bronchoalvéolaire à la concentration de 3 ppm (158 ± 33 IU/ μ L vs 121 ± 7 IU/ μ L, par rapport à la concentration de 0,3 ppm ($p < 0,05$), mais pas par rapport au contrôle) ;
- une augmentation des lymphocytes dans le fluide bronchoalvéolaire à la concentration de 3 ppm est mesurée ($43,8 \pm 55$ cellules / $mL \times 10^4$) par rapport à la concentration de 0,3 ppm et au contrôle, $5,83 \pm 1,6$ cellules / $mL \times 10^4$ et $17 \pm 9,3$ cellules / $mL \times 10^4$, respectivement ;
- une diminution de la performance globale du muscle cardiaque (augmentation de l'index de Tei⁴) à la concentration de 0,3 ppm mesurée une heure et 24 heures de post-exposition ($p < 0,007$ et $p < 0,021$, respectivement) par rapport à la performance globale du muscle cardiaque mesurée 24 h avant l'exposition (contrôle) ; cet effet n'était pas observé à la concentration de 3 ppm ;
- une augmentation de la dyssynchronie du muscle cardiaque à la concentration de 3 ppm mesurée une heure et 24 heures post-exposition ($p < 0,05$) par rapport à la dyssynchronie du muscle cardiaque mesurée 24 h avant l'exposition (contrôle) ; cet effet n'était pas observé à la concentration de 0,3 ppm (Thompson *et al.*, 2017).

Des résultats comparables sur la fonction cardiaque ont été observés à 3 ppm pendant 3 heures sur des rats hypertendus (Perez *et al.*, 2015) ou des souris C57bl6 (Kurhanewicz *et al.*, 2017). Dans cette dernière étude, des souris KO pour le récepteur TRPA1 ne montraient aucun effet significatif de l'acroléine.

De nombreuses études révèlent également que l'acroléine cible et active les récepteurs TRPA1, présents en grand nombre dans le système nerveux sensitif. Ces récepteurs seraient impliqués dans les effets toxiques respiratoires et cardiovasculaires de l'acroléine. Ces récepteurs induisent un relargage de neuropeptides pro-inflammatoires initiant une inflammation neurogénique et seraient impliqués tant dans les effets toxiques de l'acroléine sur les voies respiratoires, les systèmes cardio-pulmonaire et cardio-vasculaire que dans les arythmies cardiaques (voir la revue Achanta *et al.*, 2017). Une modulation du système nerveux autonome par l'acroléine est également suggérée (Kurhanewicz *et al.*, 2017).

⁴ Indice échocardiographique de la performance du muscle cardiaque.

Sithu *et al.* ont exposé des souris mâles C57B1/6 à 5 ppm d'acroléine pendant 6 h (aiguë) ou à 1 ppm pendant 6 heures/j sur 4 jours (Sithu *et al.*, 2010). Suite à cette exposition subaiguë, l'acroléine a entraîné une augmentation des adduits acroléine-protéine dans les plaquettes. Les plaquettes isolées à partir des souris exposées à l'acroléine en aigu ou en subaigu présentaient une augmentation de l'agrégation induite par 10 μM d'adénosine diphosphate. Certains indices d'activation des plaquettes, tels que la formation d'agrégats plaquettes-leucocytes dans le sang, les niveaux plasmatiques de facteur plaquettaire 4 et l'augmentation de la liaison plaquette-fibrinogène (exposition sub-aiguë uniquement) étaient augmentés suite aux expositions aiguë et sub-aiguë à l'acroléine. Enfin, le temps de saignement était diminué suite à une exposition sub-aiguë d'acroléine. Les auteurs suggèrent que l'acroléine est un facteur important contribuant au risque pro-thrombotique chez l'Homme.

Plusieurs auteurs ont décrit des effets de l'acroléine sur la fonction cardiovasculaire telle qu'une augmentation des arythmies et la perte du baroréflexe chez l'animal et un effet vasoconstricteur dans un mécanisme impliquant le stress oxydant et l'inflammation (Hazari *et al.*, 2014 ; Henning *et al.*, 2017).

L'acroléine endogène serait également impliquée dans le développement de maladies neurologiques (Lin *et al.*, 2018) ; telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la sclérose latérale amyotrophique ou encore la sclérose en plaques. Plusieurs études ont, en effet, mis en évidence une augmentation des niveaux d'acroléine dans plusieurs régions du cerveau de personnes atteintes de ces maladies et dans la moelle épinière de souris (Lovell *et al.*, 2001 ; Lopachin *et al.*, 2008 ; Leung *et al.*, 2011). Ainsi, l'acroléine endogène pourrait intensifier l'hypersensibilité sensorielle et la douleur neuropathique induites par des lésions de la moelle épinière (Butler *et al.*, 2017 ; Lin *et al.*, 2018).

3.3 Toxicité subchronique et chronique

3.3.1 Données chez l'Homme

Decastro a étudié l'association entre la concentration d'acroléine dans l'air extérieur et la survenue de cas de crise d'asthme rapportée dans un échantillon représentatif de la population adultes aux États-Unis (National Health Interview Survey 2000-2009, n = 271 348 sujets) (Decastro, 2014). Les résultats montrent qu'une concentration d'acroléine dans le plus haut quintile (0,05 – 0,46 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$) était associée à une augmentation marginalement significative des crises d'asthme par rapport au quintile le plus faible (0,00014 – 0,01 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$). Le plus haut quintile d'exposition était également associé à une augmentation marginalement significative de la prévalence de crise d'asthme (au moins un épisode de crise d'asthme dans les 12 derniers mois) chez les non-fumeurs.

Annesi-Maesano *et al.* ont mis en relation la qualité de l'air mesurée entre mars 1999 et octobre 2000 dans 401 classes de CM1 et CM2 avec le statut allergique et respiratoire de 6 590 écoliers (9-10 ans, 108 écoles – étude ISAAC) (Annesi-Maesano *et al.*, 2012). Des mesures en acroléine, formaldéhyde, dioxyde d'azote (NO_2), acétaldéhyde et particules fines ($\text{PM}_{2,5}$) ont été réalisées à l'aide de capteurs du lundi au vendredi. Les enfants ont été répartis en 3 groupes (exposition faible, moyenne, forte) selon les tertiles des concentrations mesurées sur 5 jours. Pour l'acroléine, les tertiles étaient les suivants : niveau faible < limite de détection (LD), niveau moyen : > LD à

$\leq 1,55 \mu\text{g.m}^{-3}$ et niveau élevé : $> 1,55 \mu\text{g.m}^{-3}$. 71,7 % des enfants étaient exposés au niveau faible, 14,2 % au niveau moyen et 14,1% au niveau élevé.

Une visite médicale comprenant des tests cutanés pour 10 allergènes courants et un test de course pour détecter un éventuel asthme à l'effort a été réalisée. Sur la base d'un questionnaire de santé standardisé rempli par les parents, les enfants étaient considérés comme présentant un asthme et/ou une rhino-conjonctivite⁵ sur la base d'un symptôme durant les 12 derniers mois. L'asthme était considéré comme atopique lorsque l'enfant présentait au moins un test cutané positif. Après ajustement sur les facteurs de confusion, la prévalence d'asthme à l'effort dans les 12 derniers mois était plus élevée chez les enfants des salles de classe avec les niveaux les plus élevés en acroléine ($> 1,55 \mu\text{g.m}^{-3}$) (niveau élevé : OR = 1,22 ; IC_{95%} = 1,09-1,38). Les facteurs de confusion pris en compte étaient l'âge, le sexe, le tabagisme passif et les antécédents d'asthme ou d'autres allergies chez les parents. Des résultats similaires ont été observés après la prise en compte de l'origine géographique et du statut socio-économique.

En stratifiant les populations sur l'atopie, les auteurs ont montré une association significative entre une forte exposition à l'acroléine et le risque d'asthme atopique⁶, association non retrouvée chez les non atopiques. Après stratification sur la saison à laquelle ont été effectuées les mesures, l'association entre exposition à l'acroléine et l'asthme dans l'année précédente était retrouvée uniquement avec les mesures réalisées pendant la saison « chaude » (OR = 1,37 ; IC_{95%} = 1,14 - 1,66).

Lors de la première campagne nationale de l'OQAI sur la qualité de l'air dans les logements (2003-2005), 30 polluants ont été mesurés dans l'air intérieur. Les liens entre la pollution intérieure et les pathologies allergiques et respiratoires ont été recherchés grâce à des auto-questionnaires standardisés (n = 1012, individus > 15 ans, 490 foyers) (Billionnet *et al.*, 2011). Aucune association entre l'asthme et l'exposition à l'acroléine, après ajustement, n'a été mise en évidence (OR = 0,83 ; IC_{95%} = 0,4 – 1,6). En revanche, une faible association entre la rhinite et l'exposition à l'acroléine a été rapportée après ajustement (OR = 1,08 ; IC_{95%} = 0,75 – 1,6). Les facteurs de confusion pris en compte étaient le sexe, l'âge, le tabagisme, l'humidité, la période de l'étude, la présence d'animaux domestiques, la présence de moisissures, le niveau d'éducation le plus élevé parmi les personnes logeant dans un même domicile et les sources de pollution extérieure dans un rayon de 500 m (autoroute, train, aéroport, installations industrielles, usine de traitement des eaux).

⁵ Critères permettant d'identifier les enfants ayant développé une rhino-conjonctivite l'année précédente : « éternuement et nez qui coule accompagnés d'une démangeaison oculaire en dehors d'un rhume » et/ou un asthme l'année précédente, ayant répondu positivement à au moins une de ces questions, « râle ou sifflement dans la poitrine » ou « râle ou sifflement dans la poitrine la nuit » ou « ayant pris un traitement contre l'asthme ».

⁶ Les auteurs ont classé un asthme comme atopique lorsqu'il était accompagné d'un prick-test positif à au moins un allergène.

3.3.2 Données chez l'animal

Les différentes études chez l'animal indiquent que l'appareil respiratoire est l'organe cible (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Les deux principales études sont décrites ci-dessous.

Feron *et al.* ont exposé des rats Wistar ($n = 6/\text{sexe}/\text{groupe}$), des hamsters syriens ($n = 10/\text{sexe}/\text{groupe}$) et des lapins hollandais ($n = 2/\text{sexe}/\text{groupe}$) 13 semaines (6 heures/jour, 5 jour/semaine) dans des chambres d'inhalation à 0 – 0,9 - 3,3 - 11,5 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ (0 – 0,4 – 1,4 – 4,9 ppm) (Feron *et al.*, 1978). Des effets irritants et inflammatoires sur l'appareil respiratoire et des modifications histopathologiques ont été observés chez le rat, le hamster et chez le lapin (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Dans cette étude, le rat apparaît comme l'espèce la plus sensible avec une apparition des effets dès la plus faible dose au niveau de la cavité nasale chez 1 rat sur 12 (modifications inflammatoires et métaplasiques).

Dans l'étude de Matsumoto *et al.*, des rats F344 et des souris B6C3F1 des deux sexes ont été exposés à, respectivement, 0 – 0,1– 0,5 ou 2 ppm (v/v) (0 – 0,23 – 1,16 – 4,6 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$) et 0 – 0,1 – 0,4 ou 1,6 ppm d'acroléine (v/v) (0 – 0,23 – 0,93 - 3,7 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$), 6 heures par jour et 5 jours par semaine pendant 2 ans (Matsumoto *et al.*, 2021).

Il n'a été observé de symptômes ou de signes cliniques associés à l'exposition dans aucun des groupes de rats et de souris.

Chez les rats, les prises alimentaires ont été diminuées dans les deux sexes après exposition à la plus forte concentration (4,6 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$). Les poids absolus du foie, de la rate et des reins étaient diminués, en fin d'étude chez les rats mâles exposés à 4,6 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$. Dans ce groupe, des élévations de l'activité des enzymes hépatiques et des diminutions statistiquement significatives des concentrations sériques de cholestérol, triglycérides, phospholipides, créatinine et calcium ont également été notées.

Chez les souris, la survie a été diminuée dans les deux sexes, dans tous les groupes y compris chez les témoins, du fait de lésions rénales avec des dépôts amyloïdes, ce qui a obligé à interrompre les expositions à la 93^{ème} semaine chez les mâles et à la 99^{ème} semaine chez les femelles. Chez les souris des deux sexes, exposées à la plus forte concentration (3,7 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$), les prises alimentaires et le poids corporel étaient diminués.

Concernant les lésions histologiques non néoplasiques des voies respiratoires :

- chez les rats, au niveau des fosses nasales, une augmentation significative de l'inflammation, de la métaplasie et de l'atrophie de l'épithélium olfactif, ainsi que de la métaplasie des cellules squameuses, des cellules transitionnelles et des cellules calciformes a été observée chez les animaux des deux sexes à la plus forte concentration (4,6 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$). A cette concentration, des infiltrats éosinophiles étaient également présents chez les mâles. En outre, à la plus forte concentration, un œdème et une prolifération des fibres musculaires étaient également présents au niveau de la *lamina propria* chez les souris des deux sexes. L'examen histologique du reste de l'appareil respiratoire et des autres organes n'a pas montré d'anomalies ;
- chez les souris, des deux sexes, au niveau des fosses nasales, une augmentation de l'incidence des lésions a été observée à 3,7 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$, avec une inflammation, une métaplasie

des cellules squameuses, une hyperplasie, une métaplasie et une prolifération cellulaire de l'épithélium respiratoire, une métaplasie et une atrophie de l'épithélium olfactif. Chez les mâles seulement, des infiltrats éosinophiles et une hyperplasie des cellules transitionnelles étaient également présents à 3,7 mg.m⁻³. Chez les femelles seulement, des lésions inflammatoires et une hyperplasie de l'épithélium respiratoire nasal ont également été observées à 0,93 mg.m⁻³. L'examen histologique du reste de l'appareil respiratoire et des autres organes n'a pas montré d'autres anomalies que des dépôts amyloïdes dans tous les organes et en particulier dans les reins, ainsi que des lésions rénales avec ou sans dépôts amyloïdes. Ces anomalies étant aussi fréquentes chez les témoins que chez les animaux exposés, elles ne sont pas considérées comme des effets de l'exposition à l'acroléine.

Tableau 9 : Principales études décrivant des effets sur l'appareil respiratoire

Références	Espèces	Exposition	Résultats
Lyon <i>et al.</i> , 1970	Rat Sprague-Dawley (n=15) Cobaye Princeton ou Harley (n=15) Singes écureuil mâle (n=9) Chien Beagle (n=4)	0,7 – 3,7 ppm (1,6 ou 8,6 mg.m ⁻³) (vapeur) 8h/j, 5j/sem, 6 semaines Exposition corps entier	<p>Chez le rat, le cobaye, le singe et le chien</p> <p><u>1,6 mg.m⁻³</u> : modifications histopathologiques inflammatoires au niveau pulmonaire (infiltration interstitielle de leucocytes), emphysème occasionnel modéré, atteinte chez toutes les espèces (+ prononcé chez chien et singe)</p> <p><u>8,6 mg.m⁻³</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> – mortalité chez le singe (n=2) – signes cliniques de toxicité chez le chien et le singe (salivation augmentée, irritation oculaire) – modifications inflammatoires non spécifiques au niveau des poumons, du foie et des reins chez toutes les espèces – ↘ significative du poids corporel chez le rat – lésions histopathologiques au niveau de la trachée chez le chien et le singe (métaplasie squameuse, hyperplasie cellulaire basale) et au niveau du poumon chez le singe (bronchite nécrosante, bronchiolite avec métaplasie squameuse)
		0 – 0,22 – 1,0 – 1,8 ppm (0 - 0,5 – 2,3 – 4,2 mg.m ⁻³) 90 jours	<p>Chez le singe et le chien</p> <p><u>0,5 mg.m⁻³</u> : lésions histopathologiques des poumons (emphysème modéré, congestion aiguë, vacuolisation focale dans les cellules épithéliales bronchiolaires ; n=2) et de la thyroïde (hyperplasie, n=2) (chien)</p> <p><u>2,3 mg.m⁻³</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> – écoulements nasal et oculaire – modifications morphologiques de la trachée (singe) et des poumons (chien) – modifications inflammatoires non spécifiques des poumons, du foie et des reins <p><u>4,2 mg.m⁻³</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> – irritation sévère (salivation, écoulement oculaire) – métaplasie squameuse, hyperplasie cellulaire basale (singe) – bronchopneumonie (chien, n=2) <p>Chez le rat et cobaye</p> <p><u>2,3 mg.m⁻³</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> – ↘ gain de poids (rat) – inflammation pulmonaire (cobaye), hémorragie pulmonaire occasionnelle (rat, n=3) – nécrose hépatique focale <p><u>4,2 mg.m⁻³</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> – ↘ gain de poids (rats) – modifications inflammatoires non spécifiques au niveau du cerveau, du cœur, des poumons, du foie et des reins

Feron <i>et al.</i> , 1978	Rat Wistar (n=24) Lapin hollandais (n=8) Hamster syrien (n=40)	0 - 0,4 -1,4 - 4,9 ppm (0 - 0,9 - 3,3 - 11,5 mg.m ⁻³) (vapeur) 6h/j, 5j/semaine, 13 semaines Exposition corps entier	<p>Chez le rat <u>0,9 mg.m⁻³</u> : - faible ↘ du poids relatif du cœur, - faibles lésions histopathologiques nasales (modifications inflammatoires et métaplasiques ; 1/12) et modifications histopathologiques modérées au niveau nasal, larynx, trachée, bronches, poumon <u>3,3 mg.m⁻³</u> : ↘ gain de poids, métaplasie squameuse + infiltration neutrophile <u>11,5 mg.m⁻³</u> : - mortalité (n=6) - yeux fermés, poils hérissés - gain de poids, ↘ consommation alimentaire - ↗ poids relatif poumons, cœur, reins et glande surrénale - lésions nasales : rhinite nécrosante dans la région nasomaxillaire (occasionnelle) + épithélium remplacé par épithélium squameux stratifié avec parfois kératinisation + infiltration neutrophile de muqueuse (toujours) avec chez quelques animaux une importante exsudation neutrophile dans la lumière - lésions du larynx : épithélium métaplasique, occurrence épithélium squameux stratifié kératinisé, - lésions de la trachée (sévères) - lésions des bronches et des poumons : hémorragies, œdème alvéolaire et périvasculaire, bronchopneumonie, bronchite, bronchiolite, hyper et métaplasie de l'épithélium bronchique et bronchiolaire, ↗ nombre de cellules produisant du mucus dans bronchioles, accumulation macrophages alvéolaires, pneumonite interstitielle</p> <p>Chez le hamster <u>3,3 mg.m⁻³</u> : inflammation légère au niveau nasal <u>11,5 mg.m⁻³</u> : - Yeux fermés la plupart du temps, salivation et écoulement nasal - ↘ gain de poids, ↗ poids relatif poumons, cœur et reins - ↘ leucocytes neutrophiles, ↗ globules rouges, hématocrite, hémoglobine et lymphocytes - modifications histopathologiques légères à sévères au niveau : - nasal (rhinite nécrosante dans la région nasomaxillaire (occasionnel) + épithélium remplacé par épithélium squameux stratifié avec parfois kératinisation + infiltration neutrophile de muqueuse (toujours) avec chez quelques animaux importante exsudation neutrophile dans lumière, - larynx (faible épaissement épithélium ; qqs ♀), - trachée (hyperplasie focale et métaplasie de l'épithélium (qqs ♂, ttes ♀) + stratification épithélium)</p> <p>Chez le lapin <u>0,9 mg.m⁻³</u> : faible retard croissance <u>3,2 mg.m⁻³</u> : quelques éternuements, ↘ gain de poids</p>
----------------------------	--	---	--

			<p><u>11,2 mg.m⁻³</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - yeux fermés la plupart du temps, éternuements, respirent avec difficulté - ↗ poids relatif poumons, ↘ gain de poids +++, ↘ consommation alimentaire - modifications histopathologiques : légères à modérées au niveau nasal (rhinite nécrosante dans la région nasomaxillaire (occasionnel) + épithélium remplacé par épithélium squameux stratifié avec parfois kératinisation + infiltration neutrophile (toujours) avec chez qq animaux importante exsudation neutrophile dans la lumière), - modifications histopathologiques de la trachée (épithélium paraît hyperplasique + ↗ nombre cellules produisant du mucus), - modifications histopathologiques des bronches et des poumons (lésions broncho-pulmonaires similaires à celles observées chez le rat mais moins sévères)
Kutzman <i>et al.</i> , 1985 ; Costa <i>et al.</i> , 1986	Rats ♂ Fisher F344 (n=50/dose)	0 - 0,4 - 1,4 - 4 ppm (0 - 0,93 - 3,3 - 9,3 mg.m ⁻³) pendant 62 jours (6h/j, 5j/semaines) Exposition corps entier	<p><u>0,93 mg.m⁻³</u> : ↗ modifications histologiques de la cloison nasale (métaplasie de l'épithélium squameux, infiltration neutrophiles) et rhinite (non attribuable à l'acroléine)</p> <p><u>3,3 mg.m⁻³</u> : ↗ index de collagène pulmonaire ; lésions pulmonaires non attribuables à l'acroléine (n=3) (nécrose de l'épithélium bronchiolaire, desquamation de cellules dans la lumière, ↗ nombre macrophages alvéolaires → hyperplasie cellule de type II, + pneumonie chronique ou alvéolite subaiguë focale)</p> <p><u>9,3 mg.m⁻³</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - mortalité (56%, broncho-pneumonie sévère aiguë chez les mâles uniquement) - ↘ poids corporel - ↗ poids relatif des poumons et trachée, cœur, reins, cerveau et testicules - lésions (sévérité variable n=6/9) : nécrose de épithélium bronchiolaire et desquamation, œdème bronchiolaire avec macrophages, œdème pulmonaire
Kutzman <i>et al.</i> , 1984 et 1986	Rats Dahl ♀ (sélectionnés pour sensibilité ou résistance à l'hypertension induite par le sel)	0 - 0,4 - 1,4 - 4 ppm (0 - 0,93 - 3,3 - 9,3 mg.m ⁻³) pendant 61-63 jours (6h/j, 5j/semaines) Exposition corps entier	<p><u>9,3 mg.m⁻³</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - mortalité de tous les rats sensibles et de 40% des rats résistants - chez rats résistants : <ul style="list-style-type: none"> o ↗ tissu conjonctif pulmonaire, hydroxyproline et élastine, phosphatase alcaline, phosphore, SGOT, SGPT o lésions prolifératives (macrophages intra-alvéolaires, hyperplasie bronchiolaire terminale, métaplasie squameuse de l'épithélium de la trachée et de l'épithélium bronchique terminal, pneumopathie interstitielle chez 4/6 survivants) - chez rats sensibles : lésions pulmonaires (nécrose sévère avec œdème et hémorragie) <p><u>0,93 et 3,3 mg.m⁻³</u> : même lésions mais moins sévères</p>
Dorman <i>et al.</i> , 2008	Rat ♂ Fisher F344 adulte (n=12 rats/dose/durée)	0 - 0,02 - 0,06 - 0,2 - 0,6 - 1,8 ppm (0 - 0,047 - 0,14 - 0,47 - 1,4 - 4,2 mg.m ⁻³)	<p><u>0,14 et 0,047 mg.m⁻³</u> : ↘ significative du gain de poids</p> <p><u>1,4 mg.m⁻³</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - ↘ significative du gain de poids - Hyperplasie de l'épithélium respiratoire nasal (cloison latérale II ; à tous les niveaux de l'arbre respiratoire à 1,8 ppm) - Métaplasie squameuse de l'épithélium respiratoire supérieur (nez septum I, larynx) <p><u>4,2 mg.m⁻³</u> :</p>

		6h/j, 5j/semaine pendant 13 semaines Exposition corps entier Observations à 4, 14, 30, 65 et > 60 jours)	<ul style="list-style-type: none"> - ↘ significative du poids corporel de 20% - Inflammation au niveau nasal (II et III : cloison latérale et septum) et larynx et dégénérescence + atrophie de l'épithélium olfactif avec perte importante de neurones olfactifs (≥ 4 jours) - Métaplasie squameuse de l'épithélium respiratoire à tous les niveaux de l'arbre respiratoire
Matsumoto et al., 2021	Rat F344/DuCrjCrlj (SPF) (n=50/dose pour les deux sexes)	0 – 0,1– 0,5 – 2 ppm (0 – 0,23 – 1,16 – 4,6 mg.m ⁻³) (v/v) 6 h/j, 5 j/sem, pendant 2 ans (104 semaines). Exposition corps entier.	<p>4,6 mg.m⁻³ : ↘ prises alimentaires chez les rats des deux sexes ; ↘ poids absolus du foie, de la rate et des reins chez les mâles; ↑ de l'activité des enzymes hépatiques et ↘ statistiquement significatives des concentrations sériques de cholestérol, triglycérides, phospholipides, créatinine et calcium chez les mâles seulement</p> <p><u>Lésions non néoplasiques des fosses nasales :</u> 4,6 mg.m⁻³ : ↑ significatives de lésions non néoplasiques des fosses nasales chez les rats mâles et femelles, notamment inflammation de l'épithélium respiratoire, métaplasie des cellules squameuses et des cellules transitionnelles et hyperplasie des cellules caliciformes, métaplasie et atrophie de l'épithélium olfactif et prolifération des fibres musculaires au niveau de la <i>lamina propria</i> ; infiltrats éosinophiles, seulement chez les mâles</p>
	Souris B6D2F1/Crlj (SPF) (n =50/dose pour les deux sexes)	0 – 0,1 – 0,4 – 1,6 ppm (0 – 0,23 – 0,93 - 3,7 mg.m ⁻³) (v/v) 6 h/j, 5 j/sem, 93 (mâles) ou 99 (femelles) semaines. Exposition corps entier.	<p>↘ survie, dans tous les groupes y compris chez les témoins, du fait de lésions rénales avec ou sans dépôts amyloïdes dans divers organes (ce qui a obligé à interrompre les expositions à la 93^{ème} semaine chez les mâles et à la 99^{ème}, chez les femelles). Lésions sans rapport avec l'exposition à l'acroléine</p> <p>3,7 mg.m⁻³ : ↘ du poids corporel chez les souris mâles, ↘ de la consommation alimentaire chez les souris mâles et femelles à 1,6 ppm, mais sans effet sur le poids des organes, l'hématologie ou la biochimie du sang.</p> <p><u>Lésions non néoplasiques :</u> 0,93 mg.m⁻³ : Inflammation et hyperplasie de l'épithélium respiratoire chez les souris femelles</p> <p>3,7 mg.m⁻³ : - chez mâles et femelles : ↑ incidence inflammation, métaplasie des cellules squameuses, hyperplasie, métaplasie et prolifération cellulaires de l'épithélium respiratoire, métaplasie et atrophie de l'épithélium olfactif ; - chez mâles seulement, ↑ infiltrats éosinophiles et hyperplasie cellules transitionnelles</p>

D'autres études sont également disponibles, Bouley *et al.* ont exposé des rats à 0,55 ppm d'acroléine (1,3 mg.m⁻³) en continu pendant 26 jours. L'acroléine a affecté les mécanismes de défense antimicrobiennes entraînant une sensibilité plus importante aux infections bactériennes, ici à *Salmonella enteritidis* (Bouley *et al.*, 1975 cité dans US EPA, 2003). En revanche, la réponse des anticorps locaux pulmonaires et la résistance au test de challenge bactérien n'ont pas été affectées chez des rats exposés jusqu'à 3 ppm d'acroléine pendant 3 semaines (6 heures/jour et 5 jours/semaine) (Leach *et al.*, 1987 cité dans CE, 2001 ; US EPA, 2003). La diminution de l'activité bactéricide dans l'appareil respiratoire pourrait être provoquée par la destruction de l'épithélium respiratoire et de ses mécanismes de défense, plutôt que par un effet immunologique. Cependant cette hypothèse est encore sujette à caution (Aranyi *et al.*, 1986 ; Li et Holian, 1998 cité dans Ontario Ministry of the Environment, 2009).

O'Brien *et al.* ont exposé des souris mâles adultes C57BL/6 par inhalation à un aérosol d'ovalbumine OVA (1%, 30 min/j, 4 j/sem.) et/ou d'acroléine ACR (5 ppm, 4 h/j, 4 j/sem.) pendant deux semaines et ensuite immédiatement après une ré-exposition avec de l'OVA en aérosol (1%, 30 min/j) pendant 3 jours consécutifs. Les auteurs concluent que l'inhalation d'acroléine peut provoquer une sensibilisation respiratoire pour des substances autrement inoffensives tels que l'OVA mais également peuvent augmenter la tolérance immunitaire en favorisant l'inflammation respiratoire à neutrophiles (O'Brien *et al.*, 2016).

3.4 Effets sur la reproduction et le développement

3.4.1 Données chez l'Homme

Aucune publication sur les effets sur la reproduction chez l'Homme n'a été recensée.

3.4.2 Données chez l'animal

Chez l'animal, l'acroléine administrée par voie orale ou inhalée n'induit d'effets ni sur la fertilité ni sur le développement des fœtus à des doses non toxiques pour la mère. Ceci est probablement dû au fait qu'elle ne peut atteindre sa cible par voie générale du fait de sa grande réactivité locale.

Une injection intraveineuse d'acroléine à des lapines gestantes (3 – 4,5 – 6 mg/kg, 9^{ème} jour de gestation) a entraîné des effets embryolétaux de manière dose-dépendante (US EPA, 2003). Dans une seconde étude *in vivo*, l'acroléine a été injectée dans le liquide amniotique de rat (0,1-100 µg/fœtus, 13^{ème} jour de gestation). Une augmentation des avortements et de la foetolétalité a été observée à toutes les doses. Des malformations (œdème, micrognathie, défauts des pattes, hydrocéphalie) ont été également mises en évidence en fonction de la dose jusqu'à 5 µg/fœtus (peu de survivants aux doses supérieures (US EPA, 2003).

Une étude récente de Yang *et al.* a montré qu'une injection intrapéritonéale chez des rattes gestantes (n = 24, 14-20^{ème} jour de gestation) induisait à la plus forte dose (5 mg/kg) une perte de poids chez le fœtus mâle, une diminution du poids des testicules fœtaux, ainsi qu'une diminution de la production testiculaire de testostérone chez le fœtus ceci en l'absence de toxicité maternelle. Une diminution statistiquement significative de l'expression en 3-béta-HSD (3-béta-hydroxystéroïde déshydrogénase) a été observée à la plus forte dose (5 mg/kg), ainsi qu'une augmentation des

adduits aux protéines par le 4-hydroxynonéal, ce qui traduit une augmentation d'un stress oxydant induit par l'acroléine de manière statistiquement significative à la dose de 2 et 5 mg/kg. Aucune altération histopathologique n'a été observée au niveau testiculaire (Yang *et al.*, 2017).

Jeelani *et al.* ont montré que l'acroléine, à des concentrations de 10 et 25 µM, induisait un stress oxydant, une altération mitochondriale, et une mort cellulaire par apoptose qui altère la qualité des ovocytes de souris en culture et de manière subséquente perturbe le développement embryonnaire *in vitro* (Jeelani *et al.*, 2018).

Plusieurs études sur des embryons de rongeurs en culture ont montré que l'acroléine administrée par injection intra-amniotique pouvait entraîner des retards de croissance, une embryolétalité et des malformations (CE, 2001 ; US EPA, 2003 ; OMS, 1992).

3.5 Génotoxicité

D'après la monographie du CIRC, l'acroléine est un génotoxique (CIRC, 2021). Les données résumées ci-dessous sont issues de l'évaluation du CIRC de 2021.

- Il existe des preuves de formation d'adduits acroléine-ADN chez l'Homme, principalement issues d'études chez des fumeurs. Bien que la fumée de tabac contienne une quantité importante d'acroléine, le CIRC souligne que la faible différence de formation de ces adduits entre les fumeurs et non-fumeurs peut s'expliquer par d'autres sources d'exposition à l'acroléine (ex. aliments frits). Ainsi, les experts du CES soulignent qu'aucune donnée sur la génotoxicité *in vivo* chez l'Homme n'est disponible ;
- un nombre limité d'études (majoritairement menées par voies intrapéritonéale ou orale) *in vivo* chez l'animal sur les paramètres génotoxiques sont disponibles et sont largement négatives ;
- dans plusieurs études sur des cellules épithéliales bronchiques humaines en culture primaire, ainsi que sur des lignées cellulaires humaines en culture (cellules épithéliales bronchique humaines (BEAS-2B, A549), fibroblastes pulmonaires (IMR-90)), l'acroléine a induit systématiquement des cassures de brins d'ADN, la formation de micronoyaux et des liaisons croisées ADN-protéine. De plus, de nombreuses études sur des cellules humaines ont démontré que l'acroléine inhibe directement les protéines impliquées dans les trois voies principales de réparation de l'ADN ;
- l'acroléine a induit des résultats positifs au test d'Ames sans activation métabolique (Ligne directrice n° 471 : Essai de mutation réverse sur des bactéries). La mutagénicité de l'acroléine a également été démontrée dans des expériences acellulaires utilisant de l'ADN plasmidique (système SupF transfecté dans des cellules humaines) (CIRC, 2021) ;

Le CES conclut que les études *in vitro* suggèrent que l'acroléine est un génotoxique mais il existe peu de données *in vivo* et aucune donnée chez l'Homme.

3.6 Cancérogénicité

Aucune publication sur la cancérogénicité de l'acroléine chez l'Homme n'a été recensée.

En 2003, l'US EPA avait évalué l'acroléine et avait considéré que les données étaient insuffisantes pour statuer sur le potentiel cancérigène de l'acroléine chez l'Homme, que ce soit par inhalation ou par ingestion (US EPA, 2003). En 1995, le CIRC avait également évalué l'acroléine et avait conclu qu'il n'existait pas de preuves suffisantes de la cancérigénicité de l'acroléine chez l'Homme ou l'animal (groupe 3) (CIRC, 1995).

La réévaluation du potentiel cancérigène de l'acroléine réalisée par le CIRC fin 2020 a conduit à une classification de l'acroléine comme « probablement cancérigène pour l'Homme » (groupe 2A), en raison de preuves *in vivo* de cancérigénicité chez les rongeurs ainsi que de preuves mécanistiques solides *in vitro* sur des cellules humaines (CIRC, 2021). De plus, des adduits à l'ADN de l'acroléine ont été observés *in vitro* et ont été détectés également dans des tissus humains, ce qui fournit des éléments supplémentaires en termes de potentiel cancérigène de l'acroléine chez l'Homme. Aucune étude épidémiologique de cancérigénicité n'a été rapportée chez l'Homme.

Le rapport du JBRC (Japan Bioassay Research Center) (2016) sur l'étude de cancérigénicité et toxicité chronique de l'acroléine chez le rat et la souris a été un élément clé dans la décision du reclassement du CIRC (CIRC, 2021). L'étude de Matsumoto *et al.* (dont les auteurs sont affiliés au JBRC), parue en 2021, qui analyse ces données du JBRC n'était pas encore publiée lors de la réévaluation par le CIRC.

L'étude présentée par Matsumoto *et al.* vise à étudier la cancérigénicité de l'acroléine chez le rat et la souris, mâles et femelles, dans le cadre d'une étude d'exposition par inhalation de deux ans. L'étude renseigne sur la survie, les poids corporels et la caractérisation des lésions néoplasiques et non néoplasiques chez les rats et les souris mâles et femelles (Matsumoto *et al.*, 2021).

Dans cette étude, 4 groupes de rats F344/DuCrI CrIj (SPF) (n = 50/sexe/groupe) ont été exposés par inhalation corps entier à 0 – 0,1 – 0,5 et 2 ppm (v/v) (0 - 0,23 - 1,16 - 4,6 mg.m⁻³) d'acroléine 6 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 104 semaines. De même, 4 groupes de souris B6D2F1/CrIj (SPF) (n = 50/sexe/groupe) ont été exposés par inhalation corps entier à 0 – 0,1 – 0,4 – 1,6 ppm (v/v) (0 – 0,23 – 0,93 - 3,7 mg.m⁻³) d'acroléine 6 heures par jour 5 jours par semaine. Dans l'étude sur les souris, l'administration d'acroléine a été arrêtée à la 93^{ème} semaine chez les mâles et la 99^{ème} semaine chez les femelles en raison d'une baisse des taux de survie dans tous les groupes, y compris le groupe témoin.

Les doses d'acroléine utilisées dans cette étude étaient appropriées et basées sur la dose maximale tolérée (DMT) à la suite d'une étude par inhalation de 13 semaines. Les doses ont été choisies conformément aux lignes directrices de l'Institut national du cancer (INCA) et du CIRC. Il s'agit d'une étude de bonne qualité et d'un niveau de confiance élevé. Le protocole d'exposition semble correct. La source et la pureté de l'acroléine utilisée dans la présente étude ont été documentées avant et après utilisation et les concentrations d'acroléine ont été surveillées à l'aide de la chromatographie en phase gazeuse toutes les 15 minutes pendant les périodes d'exposition. Le nombre d'animaux étudiés à chaque dose était suffisant et conforme à la ligne directrice 451 de l'OCDE. Les données historiques sur les témoins ont été correctement référencées.

Chez le rat, des lésions néoplasiques et non-néoplasiques ont été observées chez les mâles et les femelles à la dose la plus élevée de 4,6 mg.m⁻³ (2 ppm). Il s'agissait :

- d'une augmentation de l'incidence du rhabdomyome de la cavité nasale des rats femelles exposés à 2 ppm (4,6 mg.m⁻³) d'acroléine. Cette tumeur, provenant du muscle strié, est très rare dans la cavité nasale chez l'Homme (Wurm *et al.*, 2005) et chez le rat. Ce type de tumeur est toutefois bénin. Par conséquent, le CES considère discutable de retenir cet effet pour évaluer la cancérogénicité de l'acroléine ;
- d'une augmentation de l'incidence des carcinomes spinocellulaires (ou carcinome épidermoïde) dans la cavité nasale. Le CES considère que, même s'il n'y a pas de différence statistiquement significative par rapport au groupe contrôle et une absence de relation dose-réponse, cette tumeur néoplasique très rare (données historiques du JBRC : 0%) est à prendre en considération.

Dans la présentation des résultats et les calculs statistiques, le JBRC et Matsumoto *et al.* combinent le rhabdomyome et le carcinome spinocellulaire, ce qui mène à un test de tendance positif. Le CIRC reprend cette combinaison. Cependant, selon les critères du CIRC (CIRC, 2019), les tumeurs bénignes ne peuvent être combinées avec les tumeurs malignes dans l'évaluation de l'incidence que lorsque :

- elles apparaissent en même temps que les tumeurs malignes dans un même organe ou tissu et qu'elles proviennent du même type de cellules dans une étude particulière ;
- elles semblent représenter une étape dans la progression vers la malignité.

Or, ces critères ne sont pas remplis : le rhabdomyome est une tumeur bénigne très rare dérivée des cellules musculaires striées et les carcinomes spinocellulaires sont des tumeurs malignes agressives qui naissent dans les cellules épithéliales squameuses.

Chez la souris, une augmentation significative de l'incidence de l'adénome de la cavité nasale a été observée chez les souris femelles à la dose la plus élevée de 3,7 mg.m⁻³ (1,6 ppm). Ce type de tumeur, typiquement considéré comme bénin, est considéré comme une lésion néoplasique par le JBRC et Matsumoto *et al.* (JBRC, 2016 ; Matsumoto *et al.*, 2021). Dans le rapport du JBRC, un test de Cochran-Armitage significatif ($p = 0,0347$) pour le lymphome malin est rapporté chez la souris femelle (test exact de Fisher et test de Peto non significatifs) (JBRC, 2016). Les auteurs ne rapportent pas de différence significative de survie à la fin de l'exposition (mâles, 93 semaines : 22% chez les contrôles vs 30% dans le groupe à 3,7 mg.m⁻³ (1,6 ppm) ; femelles, 99 semaines : 22% vs 38%). La diminution de survie semble donc plus précoce et plus marquée chez les contrôles que dans le groupe à 3,7 mg.m⁻³ (1,6 ppm), ce qui rend les tests difficilement interprétables. Le test de tendance linéaire de Cochran-Armitage est basé sur une hypothèse binomiale selon laquelle les animaux ont le même risque de développer la tumeur pendant la durée de l'étude. Cependant, le risque de développer la tumeur chez l'animal augmente à mesure que la durée de l'étude augmente. L'hypothèse n'est donc plus valable si certains animaux meurent plus tôt que d'autres. De plus, aucune référence à l'augmentation de lymphomes malins (citée dans le rapport d'étude du JBRC de 2016) n'est faite dans la publication de Matsumoto *et al.* de 2021. Enfin, les données historiques du

JBRC rapportent une prévalence de 28-46% chez les souris femelles. Il est également à noter que les lymphomes malins sont les tumeurs néoplasiques les plus communes chez la souris femelle (Yamate *et al.*, 1990).

Une étude par voie cutanée chez la souris, deux par inhalation chez le rat et le hamster, deux études par voie orale et deux par voie intra-péritonéale chez le rat et la souris ne mettent pas en évidence de tumeur suite à une exposition à l'acroléine (Tableau 10). Le seul effet observé est une augmentation de l'incidence des adénomes (tumeurs bénignes) du cortex surrénalien et des tumeurs hépatiques (uniquement à la plus faible dose, non retrouvées aux doses supérieures) chez les rates exposées à 625 ppm (12,5 mg.kg pc.j⁻¹) *via* l'eau de boisson pendant 100 semaines (Lijinski et Reuder, 1987 cité dans US EPA, 2003) (résultats non confirmés suite à une ré-analyse des données).

Cohen *et al.* ont exposé 2 fois par semaine pendant 6 semaines des rats Fisher 344 mâles (n = 30/groupe) à 2 mg/kg d'acroléine par voie intra-péritonéale (Cohen *et al.*, 1992). Aucune augmentation de l'incidence des tumeurs n'a été observée chez les rats exposés à l'acroléine seule. En revanche, l'injection d'acroléine par voie intra-péritonéale pendant 6 semaines, suivie par un traitement par l'uracile à 3 % dans la nourriture pendant 20 semaines, a entraîné l'induction de tumeurs de la vessie (papillomes chez 18 rats sur 30 en comparaison à l'administration d'uracile seule chez 8 rats sur 30). L'incidence des hyperplasies nodulaires (considérées comme précurseur des papillomes) était plus faible chez les rats exposés à l'acroléine/uracile (10/30) comparé aux rats exposés au contrôle/uracile (21/30). En combinant l'incidence des hyperplasies nodulaires et des papillomes, aucune différence significative n'est observée entre les 2 groupes. Les auteurs suggèrent que l'acroléine est un initiateur de tumeur sur la vessie. Cependant, une autre étude réalisée chez des souris exposées à l'acroléine et à l'huile de croton, n'a pas montré de potentiel initiateur de tumeur pour l'acroléine (Salaman et Roe, 1956 cité dans l'US EPA, 2003).

Au final, plusieurs études citées dans le tableau 10 n'ont pas été retenues par les experts pour la suite de l'analyse. En effet, celles-ci présentaient de nombreuses limites expérimentales ne permettant pas une interprétation des résultats (dose unique, absence de dose contrôle, faible effectif d'animaux, exposition non adéquate ou données de survie non reportées).

Tableau 10 : Résumé des études de cancérogénicité

Références	Espèces	Exposition	Résultats
Etudes par voie inhalée			
Feron & Kruysse (1977)	Hamster (Syrian golden) (n=36/dose/sexe)	0 (air filtré) et 4 ppm (9,2 mg/m ³), 7 h/j, 5 j/sem pendant 52 sem.	<u>Lésions néoplasiques</u> : aucune lésion néoplasique.
Le Bouffant <i>et al.</i> (1980)	Rats femelles (Sprague-Dawley) (n=20 rats/dose)	8 ppm (18,3 mg/m ³), 1 h/j, 5 j/sem pendant 10 ou 18 mois.	<u>Lésions néoplasiques</u> : aucune lésion néoplasique.
Matsumoto <i>et al.</i> (2021)	Rat (F344/DuCrIj (SPF)) (n=50/sexe)	0 – 0,1 – 0,5 – 2 ppm (0 – 0,23 – 1,16 – 5 mg.m ⁻³) (v/v) 6 h/j, 5 j/sem, pendant 2 ans (104 semaines). Exposition corps entier.	<u>Lésions néoplasiques</u> : < 5 mg.m ⁻³ : Aucune augmentation des lésions néoplasiques. 5 mg.m ⁻³ : - Lésions néoplasiques bénignes : rhabdomyomes dans les fosses nasales chez des rats femelles exposés (4/50). Aucun rhabdomyome chez les rats mâles et aucune de ces lésions n'était présente chez les témoins non traités, ou chez les rats traités à des concentrations plus faibles d'acroléine. - Lésions néoplasiques malignes : ↑ de l'incidence du carcinome spinocellulaire de la cavité nasale chez les rats mâles (1/50) et femelles (2/50) (non observée chez les témoins historiques du JBRC (2016) (599 rats mâles et 600 rats femelles)).
	Souris B6D2F1/Crlj (SPF) (n=50/sexe)	0 – 0,1 – 0,4 – 1,6 ppm (0 – 0,23 – 0,9 – 3,7 mg.m ⁻³) (v/v) 6 h/j, 5 j/sem, Pendant 93 semaines chez les mâles et 99 semaines chez les femelles Exposition corps entier.	<u>Lésions néoplasiques</u> : Lésions néoplasiques bénignes de la cavité nasale (épithélium respiratoire cilié septum antérieur): 3,7 mg.m ⁻³ : 1 adénome chez mâles (non stat sign), 16 adénomes chez femelles (Fisher p <0,01 ; Peto test p <0,05). Du fait de la mortalité élevée des souris pour des raisons indépendantes de l'exposition à l'acroléine, la puissance de l'étude dans cette espèce a été très réduite (diminution de la durée d'exposition et surtout des effectifs des groupes témoin et traités (moins de 30 %, en fin d'étude).
Etudes par voie orale			

Lijinsky & Reuber (1987)	Rats mâles et femelles (F344) (n=20/dose)	<u>Voie orale (eau de boisson) :</u> 0 – 1,9 – 5,0 ou 12,5 mg/j, 5 j/sem pendant 104 sem.	<u>Lésions néoplasiques :</u> - 1,9 mg/j : chez les mâles, augmentation <u>statistiquement significative</u> de l'incidence de tumeurs hépatiques (8/20), non retrouvé aux doses plus élevées. - 12,5 mg/j : chez les femelles, augmentation <u>non statistiquement significative</u> de l'incidence de tumeurs corticales (5/20) et de nodules hyperplastiques cortex (2/20) dans les glandes surrénaliennes et de tumeurs hépatiques (4/20).
Parent <i>et al.</i> (1991)	Souris (Swiss albino CD-1) (70/sexe/dose)	<u>Voie orale (gavage) :</u> 0 - 0,5 - 2 – 4,5 mg/kg/j pendant 18 mois par gavage	<u>Lésions néoplasiques :</u> Aucune lésion néoplasique.
Parent <i>et al.</i> (1992)	Rat (Sprague Dawley) (n=70/dose/sexe)	<u>Voie orale (gavage) :</u> 0 – 0,05 – 0,5 – 2,5 mg acrolein/kg (gavage) dans l'eau (10 mL/kg) pendant 102 sem.	<u>Lésions néoplasiques :</u> Incidence des adénomes corticaux des glandes surrénales chez les mâles (0/60, 4/60, 3/60, 0/60, non statistiquement significatif à toutes les doses) Incidence des carcinomes corticaux des glandes surrénales chez les mâles (0/60, 0/60, 1/60, 1/60, non statistiquement significatif à toutes les doses) Incidence des adénomes corticaux des glandes surrénales chez les femelles (2/60, 3/60, 0/60, 0/60, non statistiquement significatif à toutes les doses)
Etudes par voie cutanée			
Salaman & Roe (1956)	Souris (souche S), sexe et âge non spécifié. (n=15)	Application sur la peau pendant 10 semaines d'acroléine à 0.5% dans l'acétone (12,6 mg/animal), puis application d'huile de croton à 0,17% 1fois/sem pendant 18 sem.	<u>Lésions néoplasiques :</u> Incidence non statistiquement significative des papillomes cutanées.
Etudes par voie intra-péritonéale			
Cohen <i>et al.</i> (1992)	Rats mâles (Fisher 344) (30/groupe)	2 mg/kg d'acroléine, 2 fois/sem pendant 6 sem.	<u>Lésions néoplasiques :</u> Aucune lésion néoplasique.
Von Tungeln <i>et al.</i> (2002)	Souris (B6C3F1) nouveaux nés mâles et femelles (8 jours) (n=23 (M)/24(F))	0 – 75 – 150 nmol, en dose unique. Observations à 12 mois à 75 nmol et 18 mois à 150 nmol.	<u>Lésions néoplasiques :</u> Aucune augmentation des lésions néoplasiques.

3.7 Mécanismes d'action

Mécanismes d'action d'irritation des voies respiratoires supérieures

L'acroléine, comme les autres aldéhydes (acétaldéhyde, formaldéhyde) est un composé présentant une forte hydrosolubilité ainsi qu'une forte réactivité chimique connue pour conduire à la surproduction d'espèces réactives de l'oxygène et à la survenue d'un stress oxydant et d'une inflammation (Xiong *et al.*, 2018 ; Moghe *et al.*, 2015).

La majorité des effets de l'acroléine est due à des réactions avec les groupements thiols (SH) (NRC, 2010). En effet, l'acroléine présente une affinité importante avec les groupements SH. De ce fait, elle se lie rapidement et irréversiblement avec les macromolécules possédant un groupement SH dénaturant ainsi ces macromolécules en formant des thiols éthers. Ce mécanisme est également démontré à forte concentration lorsque l'acroléine réagit sur le groupement SH de la cystéine du récepteur TRPA1 (transient receptor potential ankyrin 1) permettant l'ouverture de canaux calciques, l'activation neuronale, la sécrétion de substance P et de la CGRP (calcitonin gene related peptide). Cette cascade d'évènements conduit à une inflammation tissulaire locale, à l'activation du signal de la douleur, à une augmentation du flux sanguin, à la perméabilité tissulaire et à l'œdème, entraînant une altération pulmonaire et cardiovasculaire (Conklin *et al.*, 2017 ; Kurrhanewicz *et al.*, 2017). L'acroléine dénature également les protéines et interfère avec la synthèse des acides nucléiques. Bien que de nombreuses molécules réagissent dans les conditions physiologiques avec l'acroléine, le produit de réaction le plus important provient de l'addition nucléophile sur le carbone éthylénique terminal avec pour conséquence, entre autres, une déplétion en glutathion cellulaire et une inhibition des protéines de fonction (enzymes) contenant des groupements SH (ATSDR, 2007). La désactivation des groupements SH des protéines de structure (cellulaires) pourrait aboutir à la perturbation du métabolisme, à l'inhibition de la croissance cellulaire ou à la division et la mort cellulaire. L'irritation respiratoire par l'acroléine pourrait également être due à la réactivité avec les groupements SH des protéines constitutives des récepteurs des muqueuses respiratoires (Beauchamp *et al.*, 1985 cité dans le NRC, 2010). Ce mécanisme d'action semble similaire à celui des autres aldéhydes menant à des symptômes liés à l'irritation des muqueuses oculaires et respiratoires associés à des lésions inflammatoires avec hyperplasie épithéliale, métaplasie squameuse, prolifération des cellules épithéliales nasales, dégénérescence de l'épithélium olfactif, perte de neurones olfactifs.

Mécanismes d'action cancérigène des voies respiratoires supérieures

D'un point de vue mécanistique, l'acroléine possède plusieurs caractéristiques clés de substances cancérigènes : génotoxicité, stress oxydant, électrophilie, immuno-suppression, inflammation chronique, cassures double brin, altérations de la réparation de l'ADN et instabilité génomique (CIRC, 2021).

De nombreuses publications montrent de manière cohérente que l'acroléine présente des caractéristiques clés de substances cancérigènes.

Electrophilie : l'acroléine est un aldéhyde α , β -insaturé (énal) fortement électrophile qui réagit facilement avec les bases de l'ADN et les protéines en formant des adduits d'ADN et de protéines *in vivo* et *in vitro*. Parmi ces adduits, les plus étudiés sont les adduits cycliques de la désoxyguanosine, qui sont formés comme une paire de α et γ -régioisomères, α - et γ -hydroxy-1, N2-propano-2-désoxyguanosine (α - et γ -OH-PdG). L' γ -OH-PdG a été systématiquement détectée chez l'Homme dans divers échantillons (y compris dans les poumons, le foie, le cerveau, la muqueuse urothéliale et la salive), principalement issues d'études chez des fumeurs, ainsi que chez les animaux de laboratoire, avec des niveaux détectés dépendant de l'espèce, des types de tissus, de l'exposition et des conditions physiologiques.

Plusieurs études sur des cellules humaines en culture primaire ont démontré que l'acroléine induit systématiquement des cassures de brins d'ADN et des ponts ADN-protéine. Dans les lignées cellulaires humaines en culture, l'acroléine a induit systématiquement des cassures de brins d'ADN, des mutations, la formation de micronoyaux et des ponts ADN-protéine.

Génotoxicité : un nombre limité d'études *in vivo* sur les paramètres génotoxiques sont disponibles et sont largement négatives. Cependant, dans de nombreux systèmes expérimentaux *in vitro*, l'acroléine s'est avérée induire systématiquement des ruptures de brins d'ADN, des ponts ADN-protéine, des mutations et des échanges de chromatides sœurs. Dans les souches de salmonelles testées sans activation métabolique, l'acroléine a induit à la fois une substitution de paires de bases et des mutations de décalage du cadre de lecture. La mutagénicité de l'acroléine a également été démontrée dans des expériences avec de l'ADN plasmidique.

Inhibition de la réparation de l'ADN : l'acroléine altère la réparation de l'ADN ou provoque une instabilité génomique. De nombreuses études *in vitro* sur des cellules humaines ont démontré que l'acroléine inhibe directement les protéines impliquées dans les trois voies principales de réparation de l'ADN.

Induction d'un stress oxydant : l'acroléine induit le stress oxydant. Il n'y a pas de données sur cet effet chez l'homme, mais de nombreuses études conduites *in vitro* sur des cellules humaines ou de mammifères en culture ont montré que le traitement par l'acroléine induisait une déplétion en glutathion et produisait des espèces réactives de l'oxygène. De même, des études *in vivo* chez des mammifères ont montré que l'administration d'acroléine par diverses voies entraînait une déplétion en glutathion, une peroxydation lipidique et une carbonylation des protéines. Une augmentation statistiquement significative de la concentration de 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) a été observée dans le parenchyme pulmonaire de rongeurs après exposition à l'acroléine par voie respiratoire.

Effet immunosuppresseur : l'acroléine a un effet immunosuppresseur *in vitro* sur des cellules humaines se traduisant par une inhibition de la production de cytokines par les lymphocytes et une diminution de la résistance des macrophages alvéolaires humains à l'infection par *Mycobacterium*

tuberculosis. De même, *in vivo*, de nombreuses études conduites chez des rongeurs montrent que l'exposition à l'acroléine, diminue les défenses immunitaires et augmentent la sensibilité aux infections bactériennes.

Effet pro-inflammatoire : quel que soit le mode d'exposition, l'acroléine produit une réaction inflammatoire des tissus exposés.

Effets sur la multiplication cellulaire : *in vitro*, l'acroléine a inhibé des gènes suppresseurs de tumeur et activé des proto-oncogènes. *In vivo*, dans toutes les espèces testées, l'inhalation d'acroléine a induit une hyperplasie, une métaplasie et des dysplasies des épithéliums respiratoires. Des effets semblables ont été observés au niveau du pré-estomac, après ingestion, chez les rongeurs.

Effets épigénétiques : plusieurs études *in vitro* indiquent un effet inhibiteur de l'acétylation de l'ADN par l'acroléine, entraînant une altération de l'assemblage de la chromatine.

Il semble que l'acroléine ait un mécanisme d'action cancérigène similaire à celui du formaldéhyde et de l'acétaldéhyde, et que de nombreuses publications sur la toxicité et la génotoxicité *in vitro*, montrent de manière cohérente que l'acroléine présente des caractéristiques clés de substances cancérigènes. Cependant, il existe un nombre limité d'études *in vivo* sur les paramètres génotoxiques et celles-ci présentent plusieurs limites. En l'absence de données *in vivo* concluantes, le CES estime qu'il n'est pas possible d'identifier un seuil de dose en deçà duquel l'acroléine ne serait pas cancérigène. Par défaut, le CES retient un mode d'action sans seuil de dose pour l'acroléine.

3.8 Populations sensibles

Les très jeunes enfants (moins de 5 ans) du fait de l'immaturation de leurs voies respiratoires pourraient constituer une population plus sensible à l'acroléine. Cependant, selon l'ATSDR, l'irritation au point de contact étant le principal effet de l'acroléine, il est peu probable que les enfants soient plus sensibles que les adultes aux effets de l'acroléine. Malgré les incertitudes liées aux différences d'architecture pulmonaire, de surface et de fréquence respiratoire liées à l'âge, une modélisation des doses pour un gaz de catégorie 1 suggère qu'il n'y a pas de différence significative entre les adultes et les jeunes enfants suite à une exposition par inhalation (ATSDR, 2007).

Les personnes présentant certaines pathologies (oculaires, cutanées, respiratoires, allergies, asthme) pourraient également être plus sensibles à l'acroléine. L'hyperréactivité bronchique, l'augmentation des médiateurs de l'inflammation et des marqueurs de l'hypersécrétion bronchique suite à une exposition à l'acroléine ont été rapportées dans plusieurs études animales *in vivo* et *in vitro* (Leikauf, 1991 ; Leikauf *et al.*, 1989a et b ; Borchers *et al.*, 1998 ; Borchers *et al.*, 1999 cités dans US EPA, 2003 ; OEHHA, 2008). Ces données suggèrent que l'acroléine exacerbe l'asthme.

Enfin, les effets d'irritation oculaire dus à l'acroléine peuvent être accrus chez les porteurs de lentilles de contact. Il n'existe pas de donnée spécifique à l'acroléine mais quelques données existent pour le formaldéhyde. Cinquante-neuf pour cent (59 %) des étudiants présents dans un laboratoire de dissection présentaient une irritation des yeux, de la gorge, du nez, des voies respiratoires et de la peau (pic 0,62 ppm). L'irritation oculaire était significativement plus forte chez les porteurs de lentilles de contact (Tanaka *et al.*, 2003 cité dans OEHHA, 2008). La capacité des lentilles à piéger et concentrer les composés volatils et l'augmentation du temps d'exposition peut rendre les porteurs de lentilles de contact plus sensibles à l'exposition oculaire et l'irritation par l'acroléine.

4 Recueil des valeurs toxicologiques de référence

Le Tableau 11 ci-après décrit les VTR par inhalation de l'acroléine établies par différents organismes internationaux pour des expositions aiguë, subchronique et chronique.

Tableau 11 : Tableau récapitulatif des VTR existantes pour l'acroléine

	VTR court terme		VTR moyen terme		VTR long terme			
Organisme	OEHHA	ATSDR	OEHHA	ATSDR	OEHHA	US EPA	Santé Canada, Environnement Canada	OMS
VTR	REL 1h	MRL	REL 8h	MRL	REL	RfC	CA	TC
Valeur VTR	2,50 µg.m ⁻³ (1,1 ppb)	6,9 µg.m ⁻³ (3 ppb)	0,70 µg.m ⁻³ (0,30 ppb)	0,09 µg.m ⁻³ (0,04 ppb)	0,35 µg.m ⁻³ (0,15 ppb)	0,02 µg.m ⁻³ (0,09 ppb)	0,40 µg.m ⁻³ (0,17 ppb)	0,40 µg.m ⁻³ (0,17 ppb)
Année	2008	2007	2008	2007	2008	2003	2000	2002
Effet critique	Irritation oculaire subjective	Irritations nasale et de la gorge, diminution de la fréquence respiratoire	Lésion de l'épithélium voies aériennes supérieures	Appareil respiratoire	Lésion de l'épithélium voies aériennes supérieures	Lésions nasales	Lésions de l'épithélium nasal	Lésions de l'épithélium nasal
Espèce	Homme	Homme	Rat	Rat	Rat	Rat	Rat	Rat
Point de départ	LOAEC _{Darley} 0,06 ppm LOAEC _{Weber-Tschopp} 0,07 ppm Moyenne géométrique des REL calculés à partir des 2 études	LOAEC 0,3 ppm	LOAEC 0,6 ppm NOAEC 0,2 ppm NOAEC _{ADJ} 71 ppb NOAEC _{HEC} 60 ppb	LOAEC 0,4 ppm LOAEC _{ADJ} 0,071 ppm LOAEC _{HEC} 0,012 ppm	LOAEC 0,6 ppm NOAEC 0,2 ppm NOAEC _{ADJ} 36 ppb NOAEC _{HEC} 30 ppb	LOAEC 0,9 mg.m ⁻³ LOAEC _{ADJ} 0,16 mg.m ⁻³ LOAEC _{HEC} 0,02 mg.m ⁻³	LOAEL 0,57 mg.m ⁻³ BMC ₀₅ 0,14 µg.m ⁻³ BMC _{05 ADJ} 0,035 µg.m ⁻³	LOAEL 0,57 mg.m ⁻³ BMC _{0,5} 0,14 mg.m ⁻³ BMC _{0,5 ADJ} 0,035 mg.m ⁻³
UF	60	100	200	300	200	1000	100	100
Référence	Darley <i>et al.</i> , 1960, Weber-Tschopp <i>et al.</i> , 1977	Weber-Tschopp <i>et al.</i> , 1977	Dorman <i>et al.</i> , 2008	Feron <i>et al.</i> , 1978	Dorman <i>et al.</i> , 2008	Feron <i>et al.</i> , 1978	Cassee <i>et al.</i> , 1996a	Cassee <i>et al.</i> , 1996a

REL : Risk exposure Level, MRL : Minimum risk level, TC : Tolerable concentration, RfC : Reference concentration, CA : Concentration admissible

4.1 VTR pour des expositions aiguës

L'OMS propose une valeur guide court terme pour l'air ambiant de 50 $\mu\text{g.m}^{-3}$ issue de l'EHC (Environmental Health Criteria) de 1992 sur l'acroléine⁷, l'effet associé à cette valeur guide est une irritation oculaire (OMS, 1992 ; OMS, 2000). L'OMS indique les seuils d'effets suivants pour l'acroléine :

- 70 $\mu\text{g.m}^{-3}$ pour la perception de l'odeur,
- 130 $\mu\text{g.m}^{-3}$ pour l'irritation oculaire,
- 300 $\mu\text{g.m}^{-3}$ pour l'irritation nasale et les clignements des yeux,
- 700 $\mu\text{g.m}^{-3}$ pour la diminution de la fréquence respiratoire.

Compte tenu des concentrations en acroléine observées dans l'air ambiant urbain ou l'air des restaurants enfumés, l'OMS considère une concentration seuil de 50 $\mu\text{g.m}^{-3}$ protégeant la majorité de la population des effets sur la santé. Cependant, dans les zones urbaines polluées et les pièces enfumées, l'acroléine est présente en combinaison avec d'autres aldéhydes irritants.

Tableau 12 : Valeurs guides de l'OMS proposées pour l'acroléine (OMS, 2000)

Effet critique	LOAEL	UF	Valeur guide	Durée	Source
Irritation oculaire chez l'Homme	130 $\mu\text{g.m}^{-3}$	2,6 (non précisé par OMS)	50 $\mu\text{g.m}^{-3}$	30 min	OMS, 1992 (EHC, 127)
Odeur désagréable	70 $\mu\text{g.m}^{-3}$	NA	-	30 min	

NA : non applicable

En 2007, l'ATSDR a proposé un MRL (Minimal risk level) pour une exposition aiguë (14 jours maximum) de **6,9 $\mu\text{g.m}^{-3}$** (0,003 ppm) (ATSDR 2007) (Tableau 13).

Selon l'ATSDR, l'effet qui apparaît à la plus faible concentration (0,1 ppm) est l'activité bactéricide mise en évidence chez la souris (Aranyi *et al.*, 1986 cité dans OEHHA, 2008 et US EPA, 2003) mais sa signification biologique n'est pas claire. Ainsi, l'effet critique retenu est l'irritation de l'épithélium nasal qui apparaît chez le rat à une concentration de 0,25 ppm (Casseo *et al.*, 1996a). Chez l'Homme, l'irritation nasale apparaît à des concentrations similaires à celles observées chez le rat. L'ATSDR a préféré retenir une étude réalisée chez l'Homme comme étude clé (Weber-Tschopp *et al.*, 1977) afin de supprimer les incertitudes liées à l'extrapolation inter-espèces. Dans cette étude, plusieurs expériences ont été réalisées. Dans une première étude, où des volontaires ont été exposés 40 minutes à des concentrations croissantes d'acroléine. Cette expérience n'a pas été

⁷ Pour quelques composés avec des effets critiques non cancérogènes, l'OMS n'a pas jugé nécessaire de remettre à jour les valeurs guides de qualité de l'air (OMS, 2000). Ces valeurs guides ont été reprises des Environmental Health Criteria (EHC) et des CICAD (Concise International Chemical Assessment Documents).

retenue car l'augmentation de la concentration en acroléine rend difficile la fixation de la durée ou du niveau d'exposition réellement responsable de l'irritation. Dans la seconde expérience, Weber-Tschopp *et al.* ont exposé des volontaires sains pendant 60 min à une concentration constante d'acroléine (0,3 ppm) et ont noté une faible sensation d'irritation du nez et de la gorge rapportée par les volontaires (par questionnaire) après 40 min d'exposition, ainsi qu'une diminution de la fréquence respiratoire (objectivée cliniquement). L'ATSDR a donc retenu une LOAEC de 0,3 ppm.

Des facteurs d'incertitude ont ensuite été appliqués à cette LOAEC :

- 10 pour la variabilité intra-espèce,
- 10 pour l'utilisation d'une LOAEC.

Tableau 13 : VTR court terme par inhalation établie par l'ATSDR (2007)

Effet critique étude source	Espèce	Point de départ	UF	Valeur
Irritations subjectives nasale et de la gorge. Mesure objective de la diminution de la fréquence respiratoire Weber-Tschopp <i>et al.</i> , 1977	Homme (volontaire)	LOAEC 0,3 ppm	100 UF _H 10 UF _L 10	MRL = 6,9 µg.m⁻³ (3 ppb)

En 2008, l'OEHHA a construit un REL (Reference exposure level) pour une exposition aiguë par inhalation (1 heure) de **2,5 µg.m⁻³** (1,1 ppb) (Tableau 14).

L'OEHHA a sélectionné l'étude de Darley *et al.* (1960) comme étant la meilleure étude pour une exposition aiguë par inhalation chez l'Homme (36 volontaires sains). L'effet critique retenu est la sensation d'irritation oculaire (LOAEC = 0,06 ppm). L'OEHHA considère que l'irritation oculaire serait également le reflet d'une irritation du tractus respiratoire supérieur. En effet, les muqueuses oculaire et nasale sont innervées par le même nerf, le nerf crânien V (nerf trijumeau). De plus, Doty *et al.* indiquent que de nombreuses études utilisant des alcools, cétones, alkylbenzènes, terpènes, butylacétate rapportent des seuils du même ordre de grandeur pour l'irritation oculaire et respiratoire suggérant que les tests d'irritation oculaire et respiratoire ont des sensibilités équivalentes pour les composés les plus volatils (Doty *et al.*, 2004 cité dans OEHHA, 2008).

Un facteur d'incertitude global de 60 a été appliqué. Il se décompose de la manière suivante :

- 1 pour la variabilité inter-espèce,
- 10 pour la variabilité intra-espèce :
 - 1 pour la composante toxicocinétique (effet au niveau du site de contact du fait de la forte réactivité de l'acroléine, pas d'effet systémique),
 - 10 pour la composante toxicodynamique (plus grande susceptibilité des enfants avec exacerbation de l'asthme),
- 6 pour l'utilisation d'une LOAEC (facteur par défaut pour des effets modérés en absence de NOAEC).

La VTR issue de l'étude de Darley *et al.* est donc de 60 ppb/60, soit 1 ppb (2,3 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$).

Dans l'étude de Weber-Tschopp *et al.* (1977), 54 volontaires sains ont été exposés à des concentrations croissantes d'acroléine pendant 40 minutes. Une sensation d'irritation oculaire importante a été rapportée suite à une exposition de 0,07 ppm. En considérant cette dose comme un LOAEC et l'application d'un facteur d'incertitude global de 60, la VTR serait de 2,7 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (1,2 ppb).

L'OEHHA n'a pas réalisé d'ajustement temporel pour élaborer son REL. Selon le Technical Support Document pour la construction de REL non cancérigène (OEHHA, 2008), un ajustement temporel n'est pas effectué pour les substances irritantes.

Les études de Darley *et al.* et de Weber-Tschopp *et al.* ont mis en évidence des effets similaires à des concentrations du même ordre de grandeur. L'OEHHA a retenu comme REL la moyenne géométrique des REL calculés à partir de ces 2 études, soit un REL aigu de 1,1 ppb (2,5 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$).

L'OEHHA accorde un niveau de confiance moyen à ce REL. En effet, la LOAEC utilisée est basée sur une LOAEC estimée de 0,06 ppm et non sur un niveau d'exposition mesuré.

Les porteurs de lentilles de contact ont un risque plus important d'irritation oculaire suite à une exposition à l'acroléine. L'OEHHA précise que le facteur d'incertitude intra-espèce de 10 protège cette sous-population.

Tableau 14 : VTR court terme par inhalation établie par l'OEHHA (2008)

Effet critique Étude source	Espèce	Point de départ	UF	VTR
Irritation oculaire Darley <i>et al.</i> , 1960 ; Weber- Tschopp <i>et al.</i> , 1977	Hommes (volontaires sains)	LOAEC _{Darley} 0,06 ppm LOAEC _{Weber-Tschopp} 0,07 ppm Moyenne géométrique des REL calculés à partir des 2 études	60 UF _A 1 UF _H 10 UF _L 6	REL acute= 2,5 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (1,1 ppb)

Cette VTR est confortée par l'étude de Cassee *et al.* (1996a) dans laquelle des rats ont été exposés 6 heures par jour pendant 3 jours. Cette étude a mis en évidence chez les animaux des lésions de l'épithélium nasal à 0,25 ppm (0,58 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$). Une BMC_{05L} de 56 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ a été calculée sur la base des incidences de lésions modérées à sévères observées à chaque niveau d'exposition. L'effet critique n'étant pas un effet irritant sensoriel, un ajustement temporel a été appliqué pour ajuster l'exposition de 18 heures d'exposition à 1 heure ($C^n \times T = K$ avec $n = 3$ selon OEHHA, 2008). Un ajustement allométrique a également été réalisé par l'utilisation d'un facteur d'ajustement dosimétrique (DAF) de 0,85. Enfin, un facteur d'incertitude global de 60 (UF_{A-TK} = 2, UF_{A-TD} = 3, UF_H = 10) a été appliqué pour obtenir un REL de 2,1 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (0,91 ppb) (OEHHA, 2008).

4.2 VTR pour des expositions subchroniques

En 2007, l'ATSDR a défini un MRL pour une exposition subchronique (15-364 jours) de $0,09 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ ($4 \cdot 10^{-5}$ ppm) (ATSDR 2007) (Tableau 15). Aucune donnée n'est disponible chez l'Homme pour une durée d'exposition subchronique. Chez l'animal, l'effet le plus sensible est une inflammation bronchique et une métaplasie de l'épithélium nasal. Ces effets ont été observés chez le rat à 0,4 ppm (Feron *et al.*, 1978 ; Kutzman *et al.*, 1984).

Le MRL est basé sur la LOAEC la plus basse identifiée : 0,4 ppm issue de l'étude de Feron *et al.* (1978). Cette étude compare les effets chez des rats, des lapins et des hamsters exposés 13 semaines, 6h/j et 5j/semaines à 0,4 ; 1,4 et 4 ppm d'acroléine. Dans cette étude, les rats apparaissent comme l'espèce la plus sensible avec des modifications histologiques plus sévères au niveau de l'appareil respiratoire. Bien qu'une inflammation bronchique ait également été observée chez le rat, les changements structuraux de l'épithélium nasal semblent être l'effet le plus sensible, effets qui apparaissent également suite à une exposition aiguë chez le rat (Cassee *et al.*, 1996a).

Un ajustement temporel a été réalisé : $\text{LOAEC}_{\text{ADJ}} = 0,4 \text{ ppm} \times 6\text{h}/24\text{h} \times 5\text{j}/7\text{j} = 0,071 \text{ ppm}$

Un ajustement allométrique a été réalisé afin de calculer une concentration équivalente humaine en considérant l'acroléine comme un gaz de catégorie 1⁸ chez le rat et l'Homme :

$$\text{LOAEC}_{\text{HEC}} = 0,071 \text{ ppm} \times \text{RGDR}_{\text{ET}} = 0,071 \times 0,17 = 0,012 \text{ ppm}$$

Avec RGDR_{ET} = Regional gas dose ratio for the extrathoracic region

Des facteurs d'incertitude ont été ensuite appliqués à cette $\text{LOAEC}_{\text{HEC}}$: 3 pour l'extrapolation inter-espèces, 10 pour la variabilité intra-espèce et 10 pour l'utilisation d'une LOAEC.

Tableau 15 : VTR moyen terme par inhalation établie par l'ATSDR (2007)

Effet critique Étude source	Espèce	Point de départ	UF	Valeur VTR
Modifications histologiques au niveau de l'appareil respiratoire Feron <i>et al.</i> , 1978	Rat	LOAEC 0,4 ppm LOAEC _{ADJ} 0,071 ppm LOAEC _{HEC} 0,012 ppm	300 UF _A 3 UF _H 10 UF _L 10	MRL intermédiaire = 0,09 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (0,04 ppb)

En 2008, l'OEHHA a construit un REL - 8 heures de **0,7 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$** (0,3 ppb) (Tableau 16).

L'OEHHA a basé sa VTR sur l'étude de Dorman *et al.* réalisée chez le rat Fisher mâle adulte exposé 13 semaines à l'acroléine (Dorman *et al.*, 2008). A 0,6 ppm (LOAEC), les auteurs ont mis en

⁸ Selon l'US EPA (1994), un gaz de catégorie 1 est un gaz fortement soluble dans l'eau et/ou ayant une réactivité rapide et irréversible sur le tractus respiratoire.

évidence des lésions de l'épithélium respiratoire supérieur. Pour l'effet critique retenu, l'OEHHA a retenu une NOAEC de 0,2 ppm (0,46 mg.m⁻³) comme PoD.

L'effet critique n'étant pas un effet irritant sensoriel, un ajustement temporel a été effectué (C_{xT} = K) pour extrapoler l'exposition de 6 à 24 h et de 5 à 7 jours. L'exposition subchronique a été convertie sur une durée de 8 h avec l'utilisation du taux de conversion du débit respiratoire sur 8h (20/10) :

$$\text{NOAEC}_{\text{ADJ}} = 0,2 \times 6/24 \times 5/7 \times 20/10 = 71 \text{ ppb}$$

A partir de cette NOAEC_{ADJ}, une concentration équivalente humaine a été calculée (NOAEC_{HEC}) en utilisant un facteur d'ajustement dosimétrique (DAF). Pour ce faire, l'OEHHA a utilisé un modèle de dynamique des fluides du formaldéhyde chez l'Homme, le rat et le singe rhésus (Kimbell *et al.*, 2001 cité dans OEHHA, 2008) en considérant que l'acroléine et le formaldéhyde provoquent des effets localement au niveau de l'épithélium respiratoire et se déposent de la même manière dans les voies nasales :

$$\text{NOAEC}_{\text{HEC}} = \text{NOAEC}_{\text{ADJ}} \times \text{DAF} = 71 \times 0,85 = 60 \text{ ppb}$$

Un facteur d'incertitude total de 200 a ensuite été appliqué. Il se décompose de la manière suivante :

- UF_A
 - o 2 pour la composante toxicocinétique (utilisation d'un DAF basé sur un analogue, le formaldéhyde),
 - o √10 pour la composante toxicodynamique (facteur par défaut),
- UF_H = 10 (exacerbation potentielle de l'asthme chez les enfants),
- UF_S = √10.

Tableau 16 : VTR moyen terme par inhalation établie par l'OEHHA (2008)

Effet critique	Espèce	Point de départ	UF	VTR
Lésion de l'épithélium respiratoire supérieur	Rat Fisher	LOAEC 0,6 ppm NOAEC 0,2 ppm	200	REL_{8h} = 0,70 µg.m⁻³ (0,30 ppb)
Dorman <i>et al.</i> , 2008		NOAEC _{ADJ} 71 ppb NOAEC _{HEC} 60 ppb	UF _{A-TK} 2 UF _{A-TD} √10 UF _H 10 UF _S √10	

Le REL est conforté par les études de Kutzman *et al.* et Feron *et al.* qui ont exposé des rats Fisher à l'acroléine pendant 6h/j, 5j/semaine pendant 62 jours (Kutzman *et al.*, 1985 ; Feron *et al.*, 1978). Une LOAEC de 0,4 ppm a été identifiée pour des lésions de l'épithélium respiratoire. L'effet critique n'étant pas un effet irritant sensoriel, un ajustement temporel a été effectué pour convertir l'exposition sur une durée de 8h (CⁿxT=K avec n=1,2 ; LOAEC_{ADJ} = LOAEC x 6/24 x 5/7 x 20/10). Un ajustement allométrique a également été réalisé : LOAEC_{HEC} = LOAEC_{ADJ} x DAF avec DAF = 0,85). Un facteur d'incertitude total de 600 a ensuite été appliqué (UF_{A-TK} = 2, UF_{A-TD} = √10, UF_H = 10, UF_S = √10 et UF_L = 3). Le REL calculé à partir de ces études est de 0,46 µg.m⁻³ (0,20 ppb).

4.3 VTR pour des expositions chroniques

En 2003, l'US EPA a défini une VTR de 0,02 µg.m⁻³ basée sur une étude de toxicité subchronique de Feron *et al.* (1978) (Tableau 17). L'US EPA a considéré cette étude comme étant de meilleure qualité en comparaison avec l'étude court terme de Cassee *et al.* pour les raisons suivantes (Cassee *et al.*, 1996a) :

- le plus grand nombre d'animaux par test (6 animaux/sexe vs 6 mâles),
- la durée de l'étude (13 semaines vs 3 jours),
- les tests réalisés sur plusieurs espèces et les 2 sexes,
- l'évaluation de nombreux endpoints et de la relation dose-réponse.

L'étude de Feron *et al.* a mis en évidence des lésions nasales chez des rats exposés à l'acroléine 6 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 13 semaines à des concentrations de 0 - 0,9 - 3,2 ou 11 mg.m⁻³ (Feron *et al.*, 1978). A partir de cette étude, une LOAEC expérimentale de 0,92 mg.m⁻³ (0,4 ppm) a été mise en évidence. La LOAEC a été ajustée à une exposition continue selon le calcul suivant :

$$LOAEC_{ADJ} = 0,9 \text{ mg.m}^{-3} \times 6\text{h}/24\text{h} \times 5\text{j}/7\text{j} = 0,16 \text{ mg.m}^{-3}$$

Une LOAEC équivalente chez l'Homme (LOAEL_{HEC}) a été ensuite calculée à partir de la LOAEC ajustée chez l'animal (LOAEC_{ADJ}) pour tenir compte des différences dosimétriques entre l'espèce animale expérimentée et l'homme, selon le calcul suivant (gaz de catégorie 1⁹ selon l'US EPA entraînant des effets respiratoires avec une localisation extra-thoracique) :

$$LOAEC_{HEC} = LOAEC_{ADJ} \times \text{Regional Gas Dose Ratio} = LOAEC_{ADJ} \times (V_A/SA_A)/(V_H/SA_H)$$

$$LOAEC_{HEC} = 0,16 \times [(0,2/15) / (20/200)] = 0,02 \text{ mg.m}^{-3}$$

Avec : LOAEC_{HEC} = LOAEC chez l'Homme

LOAEC_{ADJ} = LOAEC chez l'animal ajusté sur la durée d'exposition

V_A = taux de ventilation chez le rat = 0,20 m³/j

SA_A = surface de la région extra-thoracique des rats = 15 cm²

V_H = taux de ventilation chez l'Homme = 20 m³/j

SA_H = surface de la région extra-thoracique chez l'Homme = 200 cm²

Enfin, l'US EPA a appliqué un facteur d'incertitude de 1000 du point de départ (PoD) comprenant :

- UF_A : 3 (√10) pour la transposition de l'animal à l'Homme (toxicodynamie),
- UF_H : 10 pour la variabilité au sein de l'espèce humaine,
- UF_S : 10 pour l'adaptation d'une étude subchronique à des résultats chroniques,
- UF_L : 3 (√10) pour l'utilisation d'une LOAEC au lieu d'une NOAEC,

⁹ Gaz de catégorie 1 : gaz ayant une action locale au niveau du tractus respiratoire

- UF_D : 1 car les études sur la toxicité du développement et de la reproduction et les investigations chez d'autres espèces animales sont considérées comme suffisantes.

Tableau 17 : VTR long terme par inhalation établie par l'US EPA (2003)

Effet critique étude source	Espèce	Point de départ	UF	VTR
Lésions nasales Feron <i>et al.</i> , 1978	Rat	LOAEC 0,9 mg/m ³ LOAEC _{ADJ} 0,16 mg/m ³ LOAEC _{HEC} 0,02 mg/m ³	1000 UF _A 3 (√10) UF _H 10 UF _S 10 UF _L 3 (√10) UF _D 1	RfC = 0,02 µg.m⁻³ (0,08 ppb)

L'US EPA a fixé un niveau de confiance moyen à cette VTR, un niveau de confiance moyen ayant été attribué à l'étude clé. En effet, bien que l'étude principale (chez 3 espèces) ait examiné de nombreux « endpoints », plusieurs points faibles ont été soulignés par l'US EPA :

- seules 3 sections de la cavité nasale ont été examinées,
- la faible taille de l'échantillon,
- l'absence de donnée sur l'incidence.
- le choix de la LOAEC minimum est soutenu par des études subchroniques sur 2 autres espèces (lapin et hamster) et une étude sur 3 jours (Cassee *et al.*, 1996a) chez le rat dans laquelle des lésions nasales de sévérité et type similaires ont été observées.

La confiance dans l'ensemble des données est faible à moyenne du fait du manque d'étude de toxicité chronique par inhalation et de l'incertitude liée à l'incidence/sévérité des lésions nasales pour des niveaux d'exposition subchroniques/chroniques plus faible que 0,4 ppm (0,9 mg.m⁻³).

En 2008, l'OEHHA a construit un REL chronique de 0,35 µg.m⁻³ basé sur une étude de toxicité subchronique chez des rats mâles Fisher exposés à l'acroléine 6 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 13 semaines consécutives (Dorman *et al.*, 2008) (Tableau 18). A 0,6 ppm, les auteurs ont mis en évidence des lésions de l'épithélium des voies respiratoires supérieures. Pour l'effet critique retenu, les auteurs ont observé une LOAEC de 0,6 ppm et une NOAEC 0,2 ppm (0,46 mg.m⁻³). L'OEHHA retient la NOAEC comme PoD.

L'effet critique n'étant pas une irritation *via* le nerf trijumeau, un ajustement au temps du PoD a été effectué selon le calcul suivant :

$$\text{NOAEC}_{\text{ADJ}} = 0,46 \times 6/24 \times 5/7 = 0,08 \text{ mg.m}^{-3}$$

A partir de cette NOAEC_{ADJ}, il a été calculé une concentration équivalente humaine, NOAEC_{HEC}, à partir d'un modèle de dynamique des fluides du formaldéhyde en considérant que l'acroléine et le formaldéhyde entraînent leurs effets localement au niveau de l'épithélium respiratoire et se déposent de la même manière dans les voies nasales (Kimbell *et al.*, 2001 cité dans OEHHA, 2008) :

$$\text{NOAEC}_{\text{HEC}} = \text{NOAEC}_{\text{ADJ}} \times \text{DAF} = 0,08 \times 0,85 = 0,067 \text{ mg.m}^{-3}$$

Un facteur d'incertitude total de 200 a ensuite été appliqué au $\text{NOAEC}_{\text{HEC}}$. Cet UF total se décompose de la manière suivante :

- $\text{UF}_A = \sqrt{10}$ (toxicodynamie) x 2 (utilisation du modèle du formaldéhyde)
- $\text{UF}_H = 10$ (exacerbation potentielle de l'asthme chez les enfants)
- $\text{UF}_S = \sqrt{10}$ (exposition de 8-12% de la durée de vie).

Tableau 18 : VTR long terme par inhalation établie par l'OEHHA (2008)

Effet critique étude source	Espèce	Point de départ	UF	VTR
Lésion de l'épithélium des voies aériennes supérieures Dorman <i>et al.</i> , 2008	Rat Fisher adulte	LOAEL 0,6 ppm NOAEC 0,2 ppm NOAEC _{ADJ} 36 ppb NOAEC _{HEC} 30 ppb	200 $\text{UF}_A 2 \times \sqrt{10}$ $\text{UF}_H 10$ $\text{UF}_L 1$ $\text{UF}_S \sqrt{10}$	REL_{chronique} = 0,35 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (0,15 ppb)

Le REL est conforté par les études de Kutzman *et al.* et Feron *et al.* (Kutzman *et al.*, 1985 ; Feron *et al.*, 1978). Une LOAEC de 0,4 ppm a été identifiée pour des lésions de l'épithélium des voies aériennes supérieures. L'effet critique n'étant pas un effet irritant sensoriel, un ajustement temporel a été effectué pour convertir l'exposition sur une durée de 8h ($\text{LOAEC}_{\text{ADJ}} = \text{LOAEC} \times 6/24 \times 5/7$). Un ajustement allométrique a également été réalisé ($\text{LOAEC}_{\text{HEC}} = \text{LOAEC}_{\text{ADJ}} \times \text{DAF}$ avec $\text{DAF} = 0,85$). Un facteur d'incertitude total de 600 a ensuite été appliqué ($\text{UF}_{A\text{-TK}} = 2$, $\text{UF}_{A\text{-TD}} = \sqrt{10}$, $\text{UF}_H = 10$, $\text{UF}_S = \sqrt{10}$ et $\text{UF}_L = 3$). Le REL calculé à partir de ces études est de 0,1 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (0,04 ppb).

En 2000, Santé Canada a calculé une Tolerable concentration (TC) de **0,4 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$** (Santé Canada, 2000) (Tableau 19).

Suite à une exposition à l'acroléine 6 heures par jour pendant 3 jours chez des rats, des cas modérés à graves de désorganisation, nécrose, épaissement et desquamation de l'épithélium nasal ont été observés (Cassee *et al.*, 1996a). De manière générale, les études « court terme » ne sont pas adaptées pour construire une VTR. Cependant, l'étude de Cassee *et al.* est celle qui a mis en évidence des effets aux plus faibles doses et les effets mis en évidence dans cette étude sont similaires aux changements observés au cours d'essais biologiques à plus long terme.

Une concentration associée à une hausse de 5 % de la fréquence des lésions non néoplasiques dans l'épithélium nasal ou benchmark concentration BMC_{05} a été calculée. La BMC_{05} calculée de $0,14 \text{ mg.m}^{-3}$ a été retenue comme PoD¹⁰.

Un ajustement temporel a été effectué pour tenir compte de l'extrapolation de l'exposition intermittente à une exposition continue bien qu'il n'ait pas été prouvé qu'une exposition continue aggrave les lésions : $BMC_{05 \text{ ADJ}} = 0,14 \times 6\text{h}/24\text{h} = 0,035 \text{ mg.m}^{-3}$.

A ce PoD ajusté, un facteur d'incertitude de 100 pour la variabilité inter-espèces ($UF_A = 10$) et la variabilité intra-espèce ($UF_H = 10$) a été appliqué. En l'absence de données sur l'aggravation des effets critiques avec l'augmentation de l'exposition, aucun facteur d'incertitude supplémentaire n'est utilisé pour tenir compte de l'attribution d'une VTR long terme à partir de l'exposition d'une étude à court terme.

Tableau 19 : VTR long terme par inhalation établie par Santé Canada (2000)

Effet critique Étude source	Espèce	Point de départ	UF	VTR
Lésions nasales (désorganisation, nécrose, épaissement, desquamation et hyperplasie de l'épithélium respiratoire nasal) Cassee <i>et al.</i> , 1996a	Rat	$BMC_{05} 0,14 \text{ } \mu\text{g}/\text{m}^3$ $BMC_{0,5 \text{ ADJ}} 0,035 \text{ mg}/\text{m}^3$	100 $UF_A 10$ $UF_H 10$	CT = $0,4 \text{ } \mu\text{g.m}^{-3}$ (0,17 ppb)

Une VTR de $0,6 \text{ } \mu\text{g.m}^{-3}$ a également été calculée en se basant sur une LOAEC de $0,57 \text{ mg.m}^{-3}$ pour les lésions non néoplasiques de l'épithélium nasal observées dans l'étude de Cassee *et al.* (1996a). Un facteur d'incertitude de 1000 a été appliqué au PoD (LOAEC) pour tenir compte de la variabilité inter-espèces ($UF_A = 10$), de la variabilité au sein de l'espèce humaine ($UF_H = 10$), de l'utilisation d'une LOAEC au lieu d'une NOAEC et pour l'ajustement de l'exposition intermittente à l'exposition continue ($UF_{L/S} = 10$). En l'absence de données sur l'aggravation des effets critiques avec l'augmentation de l'exposition, aucun facteur d'incertitude supplémentaire, pour tenir compte de l'attribution d'une VTR long terme à partir de l'exposition d'une étude à court terme, n'a été utilisé.

Selon Santé Canada, les 2 VTR sont jugées « prudentes » car des réductions de la teneur en glutathion ont été observées à des concentrations plus faibles chez d'autres lignées de rats.

¹⁰ Contrairement à d'autres valeurs proposées par Santé Canada, c'est bien la concentration associée à une hausse de 5% de la fréquence des lésions dans l'épithélium nasal qui a été utilisée et non la limite inférieure de l'intervalle de confiance de 95 % à cause de l'instabilité des données due à la petite taille des groupes expérimentaux.

En 2002, l'OMS/CICAD¹¹ a suivi le même raisonnement que Santé Canada et retient donc une valeur « Tolerable Concentration » provisoire de 0,4 µg.m⁻³ (Tableau 20).

Tableau 20 : VTR long terme par inhalation établie par l'OMS (2002)

Effet critique Étude source	Espèce	Point de départ	UF	VTR
Lésions de l'épithélium nasal (modification, nécrose, épaissement, desquamation, hyperplasie) Cassee <i>et al.</i> , 1996a	Rat Wistar	BMC ₀₅ 0,14 mg.m ⁻³ BMC _{05 ADJ} 0,035 mg.m ⁻³	100 UF _A 10 UF _H 10	TC provisoire = 0,4 µg.m⁻³ (0,17 ppb)

¹¹ Concise International Chemical Assessment Document

5 Proposition de VTR court terme par voie inhalée

5.1 Choix de l'effet critique

L'acroléine est un irritant des voies respiratoires et/ou des muqueuses oculaires. Les symptômes précoces observés suite à une exposition aiguë par inhalation sont une irritation sensorielle, puis des lésions (brûlures chimiques) des voies respiratoires¹². Le tissu nasal semble être la cible la plus sensible à l'irritation sensorielle, avec une apparition d'une sensation d'irritation notable après une exposition de quelques secondes à 0,3 ppm. Des concentrations plus importantes (2-5 ppm) entraînent des irritations plus sévères sur l'ensemble du tractus respiratoire, puis des brûlures chimiques.

Ainsi, le CES a décidé de retenir comme effet critique les effets irritants sensoriels sur l'appareil respiratoire supérieur.

5.2 Analyse des VTR court terme existantes

Deux VTR court terme par inhalation sont disponibles : celle de l'OEHHA (2008) de **2,5 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$** (1,1 ppb) et celle de l'ATSDR (2007) de **6,9 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$** (0,003 ppm).

Le CES **n'a pas retenu la VTR de l'OEHHA**. Il a considéré la LOAEC issue d'une expérience réalisée avec des concentrations croissantes d'acroléine (Weber-Tschopp *et al.*, 1977) non fiable du fait de difficultés métrologiques (écart-type des mesures non connu avec des mesures des concentrations par colorimétrie).

L'ATSDR a retenu la même étude clé que l'OEHHA mais a considéré l'expérience réalisée à concentration constante, ce qui permet d'être sûr de la concentration mesurée dans l'étude de Weber-Tschopp *et al.* (Weber-Tschopp *et al.*, 1977). Plusieurs points ont été discutés par les membres du CES :

- l'application d'un facteur d'incertitude de 10 pour l'utilisation d'une LOAEC (UF_L) n'est pas clairement explicitée dans le rapport de l'ATSDR mais le CES a considéré que cet UF_L de 10 pouvait être justifié puisque des effets apparaissent à des doses inférieures à la LOAEC

¹² Il n'existe pas de consensus sur la définition du terme d'« irritation sensorielle », traduit de l'anglais *sensory irritation*. Celle-ci peut se définir comme un effet chimio-sensoriel, c'est-à-dire une interaction entre la substance chimique et les terminaisons nerveuses du nerf trijumeaux. Cette irritation sensorielle pourrait être une composante de la sensation d'irritation oculaire et respiratoire, la stimulation du nerf trijumeau conduisant alors à des phénomènes de protection pour l'individu (réduction de la fréquence respiratoire par exemple) avant l'apparition de lésions des tissus ou des cellules. Ces effets sont à distinguer de la perception olfactive. De même, l'irritation sensorielle doit être distinguée de l'inflammation ou de toute autre lésion tissulaire ou cellulaire résultant de l'exposition à des agents irritants. L'irritation sensorielle pourrait par contre être responsable d'autres effets observés (inconfort décrit par les sujets par exemple) à des concentrations égales ou inférieures à celles associées aux autres effets (inflammatoires, lésionnels, etc.) de l'irritation (Afsset, 2008 ; Alarie, 1973).

retenue dans l'étude de Weber-Tschopp *et al.* menée à des concentrations croissantes (irritation oculaire dès 0,09 ppm) ;

- l'éventuelle application d'un ajustement temporel réalisé par l'application de la loi de Haber simplifiée. Selon cette loi, la concentration et le temps sont considérés comme des paramètres d'influence équivalente sur la toxicité. Ceci conduit à considérer que l'incidence et/ou la sévérité d'un effet dépend de l'exposition totale à une substance potentiellement toxique sans faire de distinction entre les pics d'exposition et les expositions plus étalées dans le temps. Cependant, il est communément admis que les effets irritants sensoriels seraient dépendants de la concentration plutôt que de la dose totale et/ou de la durée d'exposition (Belkebir *et al.*, 2011). Ainsi, il ne serait pas nécessaire d'appliquer un ajustement temporel. La VTR de l'ATSDR étant basée sur des sensations d'irritations nasale et de la gorge, l'ATSDR n'a donc pas, à juste titre, appliqué d'ajustement temporel ;
- bien que plus récente, l'étude réalisée par Dwivedi *et al.* (Dwivedi *et al.*, 2015) ne remet pas en question l'étude de Weber-Tschopp *et al.* (Weber-Tschopp *et al.*, 1977) retenue par l'ATSDR pour construire sa valeur. En effet, l'étude de Dwivedi *et al.* (2015) est réalisée sur un nombre limité d'individus (n = 18), et ne montre pas d'effet fonctionnel respiratoire et rapporte seulement une sensation d'irritation oculaire mineure à 0,1 ppm mais qui n'est pas cliniquement objectivée.

Les experts de l'Anses ont retenu la VTR de l'ATSDR de 6,9 µg.m⁻³ (0,003 ppm) jugeant celle-ci de bonne qualité. Pour les substances irritantes telles que l'acroléine, le CES décide de retenir une durée d'application de 24 heures.

Un **niveau de confiance global fort** a été attribué à cette VTR en se basant sur les critères suivants :

- Niveau de confiance dans la nature et la qualité des données : Fort, la littérature scientifique pour l'acroléine est abondante. De nombreuses études montrent des effets similaires pour des gammes de concentration similaires.
- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action : Fort, l'effet critique est récurrent dans la littérature, le mécanisme d'action de la substance est également bien établi dans la littérature.
- Niveau de confiance dans le choix de l'étude clé : Fort, l'étude clé est bien réalisée, l'effectif est important, il y a beaucoup de paramètres mesurés.
- Niveau de confiance dans le choix du PoD : Fort, de nombreuses études décrivent des effets à doses comparables.

6 Proposition de VTR moyen terme par voie inhalée

6.1 Choix de l'effet critique

L'effet critique retenu suite à une exposition subchronique à l'acroléine est la lésion de l'épithélium respiratoire des voies aériennes supérieures. En effet, ces lésions sont bien décrites avec une relation causale établie à partir de nombreuses données animales et mécanistiques.

Les experts de l'Anses retiennent comme effet critique la lésion de l'épithélium de l'appareil respiratoire supérieur pour des expositions subchroniques.

6.2 Analyse des VTR moyen terme existantes

Deux VTR moyen terme par inhalation sont disponibles, proposées par l'OEHHA en 2008 et l'ATSDR en 2007.

L'ATSDR a retenu l'étude de Feron *et al.* qui ne met en évidence des effets à la LOAEC que chez 1 rat sur 12 (Feron *et al.*, 1978). Les experts considèrent qu'au vu du faible nombre de rats atteints et en l'absence d'étude statistique réalisée, cette concentration ne peut pas être considérée comme une LOAEC, mais apporte une indication de possibilité d'effet à une concentration proche de cette valeur. De ce fait, la VTR moyen terme de l'ATSDR basée sur l'étude de Feron *et al.* (Feron *et al.*, 1978) n'est pas retenue. La VTR moyen terme de l'OEHHA ne peut également pas être retenue, bien que basée sur une étude de bonne qualité (Dorman *et al.*, 2008). En effet, l'OEHHA réalisant un ajustement allométrique basé sur l'utilisation d'un modèle de dynamique des fluides dans la cavité nasale, la construction de cette valeur ne suit pas les recommandations méthodologiques de l'Anses pour la construction des VTR (Anses, 2017).

Les experts de l'Anses ne retiennent pas les VTR existantes et propose de construire une VTR moyen terme.

6.3 Choix de l'étude clé et du point de départ

Deux études, Dorman *et al.* et Feron *et al.*, ont été choisies par des organismes internationaux reconnus dans le cadre de constructions de VTR (Dorman *et al.*, 2008 ; Feron *et al.*, 1978). Aucune autre étude subchronique n'a été identifiée par l'Anses d'après la recherche bibliographique réalisée jusqu'en novembre 2021.

Les 2 études ont exposé le corps entier des animaux pendant 13 semaines et ont évalué de nombreux paramètres dont des modifications histopathologiques. Elles mettent en évidence des effets sur l'appareil respiratoire et, plus particulièrement, au niveau de la cavité nasale, avec une relation dose-réponse. Les méthodes analytiques utilisées respectivement par les auteurs sont satisfaisantes et ne conduisent pas à écarter l'une et/ou l'autre des études. Feron *et al.* ont injecté directement dans le chromatographe, couplé à un détecteur par ionisation de flamme, les mélanges de gaz auxquels étaient exposés les animaux. Dorman *et al.* ont contrôlé les concentrations d'exposition par des prélèvements actifs sur 2,4-DNPH (après passage sur un filtre ozone pour

empêcher les interférences), extraits ensuite à l'acétonitrile et analysés par HPLC. Ces deux études peuvent donc être retenues pour la construction d'une VTR moyen terme.

Dans l'étude de Dorman *et al.*, des rats mâles Fisher (n = 360) ont été exposés 13 semaines (6h/j, 5j/semaine) par inhalation à des concentrations égales à 0 – 0,02 – 0,06 – 0,2 – 0,6 et 1,8 ppm. Les auteurs ont mis en évidence des lésions de l'épithélium respiratoire supérieur (hyperplasie, métaplasie squameuse, inflammation) dépendantes de la concentration et de la localisation suite à une exposition d'au moins 4 jours à des concentrations supérieures ou égales à 0,6 ppm. Une NOAEC de 0,2 ppm est indiquée par les auteurs (Dorman *et al.*, 2008).

L'étude de Feron *et al.* a comparé les effets chez des rats, des lapins et des hamsters exposés 13 semaines, 6h/j et 5j/semaines à 0,4 - 1,4 et 4 ppm d'acroléine chez les 2 sexes et sur plusieurs espèces (rat, hamster, cobaye). Dans cette étude, le rat apparaît comme l'espèce la plus sensible avec une apparition d'effets dès la plus faible dose au niveau de la cavité nasale chez 1 rat sur 12 (modifications inflammatoires et métaplasiques). Les résultats de cette étude et, principalement ceux rapportés chez le rat, permettent de supporter les résultats de l'étude de Dorman *et al.*.

Le choix de l'étude de Dorman *et al.* de 2008 par les experts de l'Anses par rapport à celle de Feron *et al.* de 1978 est basé sur différents critères :

- un plus grand nombre d'animaux par test (60 mâles/dose vs 6 animaux/sexe/dose),
- un plus grand nombre de doses testées (5 doses vs 3 doses),
- un plus grand nombre de sections de la cavité nasale examinées (6 sections vs 3),
- la description des données d'incidence contrairement à l'étude de Feron *et al.*,
- la fiabilité du PoD : dans l'étude de Feron *et al.*, les effets observés à la LOAEC n'apparaissent que chez 1 rat sur 12 (Feron *et al.*, 1978). Au vu du faible nombre de rats atteints et en l'absence d'étude statistique réalisée, cette concentration ne peut pas être considérée comme une LOAEC mais apporte une indication d'effets possibles à une concentration de cet ordre de valeur,
- la date de la publication (2008 vs 1978).

Ainsi, le CES retient l'étude de Dorman *et al.* (Dorman *et al.*, 2008) comme étude clé et la NOAEC de 0,2 ppm (0,46 mg/m³) proposée par les auteurs comme point de départ (PoD).

6.4 Ajustement temporel

Dans l'étude de Dorman *et al.*, des rats mâles Fisher (n=360) ont été exposés 13 semaines (6h/j, 5j/semaine) par inhalation (Dorman *et al.*, 2008). Considérant que l'acroléine est une substance irritante induisant par expositions répétées des lésions tissulaires des voies aériennes supérieures et afin de tenir compte de la discontinuité de l'exposition, un ajustement temporel a été effectué :

$$\text{NOAEC}_{\text{ADJ}} = 0,2 \times 6\text{h}/24\text{h} \times 5\text{j}/7\text{j} = 0,2 \times 0,18 = \mathbf{0,036 \text{ ppm (0,08 mg.m}^{-3}\text{)}}$$

6.5 Ajustement allométrique

Une NOAEC équivalente chez l'Homme (NOAEL_{HEC}) a été calculée à partir de la NOAEC issue de l'étude source pour tenir compte des différences dosimétriques entre l'espèce animale et l'Homme. L'acroléine est considérée comme un gaz de catégorie 1 qui, selon l'US EPA, entraîne des effets respiratoires avec une localisation extra-thoracique. Conformément à la méthode de construction de VTR établie par l'Anses, les experts ont appliqué la formule suivante :

$$\text{NOAEC}_{\text{HEC}} = \text{NOAEC}_{\text{ADJ}} \times \text{Regional Gas Dose Ratio} = \text{NOAEC} \times (V_A/S_{A_A}) / (V_H/S_{A_H})$$

$$\text{NOAEC}_{\text{ADJ}_{\text{HEC}}} = 0,036 \times [(0,2/15) / (20/200)] = \mathbf{0,0048 \text{ ppm (0,01 mg.m}^{-3}\text{)}}$$

Avec : NOAEC_{HEC} = NOAEC chez l'Homme

NOAEC_{ADJ} = NOAEC ajustée chez l'animal

V_A = taux de ventilation chez le rat = 0,20 m³/j

S_{A_A} = surface de la région extra-thoracique des rats = 15 cm²

V_H = taux de ventilation chez l'Homme = 20 m³/j

S_{A_H} = surface de la région extra-thoracique chez l'Homme = 200 cm²

6.6 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir de la NOAEC_{HEC} a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2017) :

- variabilité inter-espèces (UF_A) : **2,5**

Pour tenir compte de la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé et a permis de calculer une concentration équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédemment citée. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5 selon les recommandations de l'IPCS (IPCS, 2005) et conformément à la méthodologie de l'Anses (Anses, 2017).

- variabilité intra-espèce (UF_H) : **10**

Le facteur 10 est conservé par défaut lors de l'utilisation d'études réalisées chez l'animal, pour tenir compte de la variabilité au sein de l'espèce humaine et des populations sensibles (enfants, notamment, en lien avec l'asthme).

Un facteur d'incertitude global de 25 est donc utilisé pour la construction de la VTR moyen terme.

6.7 Proposition de VTR moyen terme par voie respiratoire

$$\mathbf{VTR = 0,44 \mu\text{g.m}^{-3} (0,2 \text{ ppb})}$$

6.8 Niveau de confiance

Un **niveau de confiance global fort** a été attribué à cette VTR en se basant sur les critères suivants :

- Niveau de confiance dans la nature et la qualité des données : Fort. La littérature scientifique pour l'acroléine est abondante. De nombreuses études montrent des effets similaires pour des gammes de concentration similaires.
- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action : Fort. L'effet critique est récurrent dans la littérature, le mécanisme d'action de la substance est également bien établi dans la littérature.
- Niveau de confiance dans choix de l'étude clé : Fort. L'étude clé est bien réalisée. L'effectif est important. Il y a beaucoup de paramètres mesurés.
- Niveau de confiance dans le choix du PoD : Fort. De nombreuses études décrivent des effets à doses comparables.

7 Proposition de VTR long terme par voie inhalée

7.1 Choix de l'effet critique

L'acroléine est une substance irritante des voies respiratoires ou des muqueuses oculaires. Les symptômes observés, suite à une exposition chronique par inhalation, incluent une irritation nasale, de la gorge et des poumons, un œdème pulmonaire, des hémorragies pulmonaires, etc. De plus, du fait de sa grande réactivité, l'acroléine exerce sa toxicité au niveau du point d'entrée dans l'organisme.

Les experts retiennent comme effet critique les effets irritants sur l'appareil respiratoire supérieur qui conduisent à des lésions de l'épithélium pour des expositions répétées. En effet, ces lésions sont bien décrites avec une relation causale établie à partir de nombreuses données animales et mécanistiques.

7.2 Analyse des VTR long terme existantes

Quatre VTR long terme par inhalation sont disponibles, proposées par l'OEHHA en 2008, l'US EPA en 2003, Santé Canada en 2000 et l'OMS en 2002.

Les VTR de Santé Canada et de l'OMS n'ont pas été retenues car elles se basent sur une étude de toxicité aiguë (Cassee *et al.*, 1996a).

L'US EPA a retenu l'étude de Feron *et al.* (Feron *et al.*, 1978) qui ne met en évidence des effets à la LOAEC que chez 1 rat sur 12. Les experts considèrent qu'au vu du faible nombre de rats atteints et en l'absence d'étude statistique réalisée, cette concentration ne peut pas être considérée comme une LOAEC, mais apporte une indication de possibilité d'effet à une concentration proche de cette valeur. De ce fait, la VTR long terme de l'US EPA basée sur l'étude de Feron *et al.* (1978) n'est pas retenue. La VTR long terme de l'OEHHA, pour laquelle un ajustement temporel a été appliqué, ne peut également pas être retenue bien que basée sur une étude de bonne qualité (Dorman *et al.*, 2008). En effet, l'OEHHA réalise un ajustement allométrique basé sur l'utilisation d'un modèle de dynamique des fluides dans la cavité nasale, la construction de cette valeur ne suit pas les recommandations méthodologiques de l'Anses pour la construction des VTR (Anses, 2017).

Les experts de l'Anses ne retiennent pas les VTR existantes et propose de construire une VTR long terme.

7.3 Construction de VTR

7.3.1 Choix de l'étude clé

L'actualisation de la bibliographie jusqu'en 2021 a permis d'identifier une nouvelle étude d'exposition chronique associant l'exposition à l'acroléine chez l'animal avec des effets lésionnels de l'épithélium respiratoire : Matsumoto *et al.* (Matsumoto *et al.*, 2021). Cette étude, décrite dans le chapitre 3.3.2, est une étude approfondie en termes de durée, de nombre d'animaux et d'observations pathologiques, suite à une exposition chronique à l'acroléine par inhalation. L'étude est bien conçue,

mise en œuvre et analysée. **Ainsi, l'étude de Matsumoto et al. (Matsumoto et al., 2021) est retenue comme étude clé.**

7.3.2 Choix du point de départ

Dans l'étude de Matsumoto et al. (2021), 4 groupes de rats F344/DuCrIj (SPF) (n = 50/sexe/groupe) ont été exposés par inhalation à 0 ; 0,1 ; 0,5 et 2 ppm (v/v) (0 – 0,23 – 1,16 – 4,6 mg.m⁻³) d'acroléine 6 heures par jour 5 jours par semaine, pendant 104 semaines. De plus, 4 groupes de souris B6D2F1/CrIj (SPF) (n = 50/sexe/groupe) ont été exposés par inhalation à 0 ; 0,1 ; 0,4 ; 1,6 ppm (v/v) (0 – 0,23 – 0,93 - 3,7 mg.m⁻³) d'acroléine 6 heures par jour/5 jours par semaine. Du fait d'une mortalité élevée chez les souris exposées et chez les témoins, l'exposition n'a pu être que de 93 semaines chez les mâles et 99 semaines chez les femelles. Dans cette étude, les souris femelles ont montré une augmentation statistiquement significative de l'incidence de l'inflammation de l'épithélium respiratoire et de l'hyperplasie de l'épithélium respiratoire pour des concentrations en acroléine plus faibles que chez les rats. Ainsi, les souris femelles exposées pendant 99 semaines sont considérées dans cette étude comme l'espèce la plus sensible. Ceci permet d'identifier une NOAEC de 0,1 ppm et une LOAEC de 0,4 ppm.

Le CES retient l'augmentation de l'incidence de l'inflammation de l'épithélium respiratoire et de l'hyperplasie de l'épithélium respiratoire observée chez les souris femelles à 0,4 ppm (0,93 mg.m⁻³) (LOAEC) permettant d'identifier une NOAEC à 0,1 ppm (0,23 mg.m⁻³). Cette dernière concentration a été retenue comme point de départ.

7.3.3 Ajustement temporel

Considérant que l'acroléine est une substance irritante induisant par expositions répétées des lésions tissulaires des voies aériennes supérieures et, afin de tenir compte de la discontinuité de l'exposition, un ajustement temporel a été effectué :

$$\text{NOAEC}_{\text{ADJ}} = 0,1 \text{ ppm} \times 6\text{h}/24\text{h} \times 5\text{j}/7\text{j} = 0,018 \text{ ppm} (0,04 \text{ mg.m}^{-3})$$

7.3.4 Ajustement allométrique

Pour réduire la valeur de l'incertitude sur la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé. Une concentration équivalente humaine (HEC = Human Equivalent Concentration) est calculée.

Pour la voie respiratoire, l'US EPA a développé différents ajustements dosimétriques qui sont réalisés en fonction des propriétés physicochimiques de la substance inhalée (particules ou gaz, fortement solubles ou peu solubles dans l'eau) et du site où sont observés les effets critiques (respiratoires ou extra-respiratoires) conduisant à différentes équations (US EPA, 1994).

D'après les recommandations de l'US EPA (US EPA, 1994), l'acroléine est considérée comme un gaz de catégorie 1 car il entraîne des effets respiratoires avec une localisation extra-thoracique. Ainsi, l'ajustement dosimétrique appliqué par défaut pour un gaz de catégorie 1 est la suivante :

$$\text{NOAEC}_{\text{ADJ HEC}} = \text{NOAEC}_{\text{ADJ}} \times \text{Regional Gas Dose Ratio} = \text{NOAEC}_{\text{ADJ}} \times (V_A/\text{SA}_A)/(V_H/\text{SA}_H)$$

Avec V_A = taux de ventilation chez le souris = 0,04 m³/j

SA_A = surface de la région extra-thoracique des souris = 3 cm²

V_H = taux de ventilation chez l'Homme = 20 m³/j

SA_H = surface de la région extra-thoracique chez l'Homme = 200 cm²

$$NOAEC_{ADJ\ HEC} = 0,002 \text{ ppm (0,005 mg.m}^{-3}\text{)}$$

7.3.5 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir de l'étude de Matsumoto *et al.* (Matsumoto *et al.*, 2021) a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2017) :

- variabilité inter-espèces (UF_A) : 2,5

L'ajustement dosimétrique réalisé a permis de calculer une concentration équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5 selon les recommandations de l'OMS-IPCS (OMS-IPCS, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses (Anses, 2017).

- variabilité interindividuelle (UF_H) : 10

Aucune donnée scientifique permettant de réduire la valeur par défaut n'étant disponible, la valeur de 10 est utilisée.

- utilisation d'un point de départ ($UF_{B/L}$) : 1

Le PoD est une NOAEC, la valeur de 1 est utilisée.

Un facteur d'incertitude global de 25 est donc utilisé pour la construction de la VTR.

7.3.6 Proposition de VTR long terme par inhalation

$$VTR = 0,2 \text{ }\mu\text{g.m}^{-3} \text{ (8.10}^{-2} \text{ ppb)}$$

7.3.7 Niveau de confiance

Un **niveau de confiance global fort** a été attribué à cette VTR en se basant sur les critères suivants :

- Niveau de confiance dans la nature et la qualité du corpus de données : Fort
- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action : Fort. L'effet critique est récurrent dans la littérature, le mécanisme d'action de la substance est également bien établi dans la littérature.
- Niveau de confiance de l'étude clé : Fort. Matsumoto *et al.* (2021) est une étude approfondie en termes de durée, de nombre d'animaux et d'observations pathologiques suite à une exposition chronique à l'acroléine par inhalation. L'étude est bien conçue, mise en oeuvre et analysée.
- Niveau de confiance dans le choix du PoD : Fort. La littérature scientifique pour l'acroléine est abondante. De nombreuses études montrent des effets similaires pour des gammes de concentration similaires.

8 VTR long terme pour les effets cancérogènes par voie inhalée

8.1 Choix de l'effet critique

Suite à une exposition chronique à l'acroléine chez le rat, des carcinomes spinocellulaires ont été observés au niveau des voies aériennes supérieures.

Le CES retient comme effet critique l'apparition des carcinomes spinocellulaires au niveau de l'appareil respiratoire supérieur pour des expositions répétées.

8.2 Choix de l'hypothèse de construction

L'acroléine est une substance réactive électrophile qui réagit spontanément avec le glutathion intracellulaire ainsi qu'avec les sites nucléophiles des protéines et de l'ADN.

De nombreuses publications montrent de manière cohérente que l'acroléine présente des caractéristiques clés de substances cancérogènes :

- l'acroléine est un aldéhyde α , β -insaturé (éнал) fortement électrophile qui réagit facilement avec les bases de l'ADN et les protéines en formant des adduits d'ADN et de protéines *in vivo* et *in vitro*. Parmi ces adduits, les plus étudiés sont les adduits cycliques de la désoxyguanosine, qui sont formés comme une paire de α et γ -régioisomères, α - et γ -hydroxy-1, N2-propano-2'-désoxyguanosine (α - et γ -OH-PdG). L' γ -OH-PdG a été systématiquement détectée chez l'Homme dans divers échantillons (y compris dans les poumons, le foie, le cerveau, la muqueuse urothéliale et la salive), ainsi que chez les animaux de laboratoire, avec des niveaux détectés dépendant de l'espèce, des types de tissus, de l'exposition et des conditions physiologiques ;
- il existe des preuves de formation d'adduits acroléine-ADN chez l'Homme, principalement issues d'études chez des fumeurs. Bien que la fumée de tabac contienne une quantité importante d'acroléine, le CIRC souligne que la faible différence de formation de ces adduits entre les fumeurs et non-fumeurs peut s'expliquer par d'autres sources d'exposition à l'acroléine. Ainsi, les experts du CES soulignent qu'aucune donnée sur la génotoxicité *in vivo* chez l'Homme n'est disponible ;
- dans plusieurs études sur des cellules épithéliales bronchiques humaines en culture primaire ainsi que sur des lignées cellulaires humaines en culture (cellules épithéliales bronchique humaines (BEAS-2B, A549), fibroblastes pulmonaires (IMR-90)), l'acroléine a induit systématiquement des cassures de brins d'ADN, la formation de micronoyaux et des liaisons croisées ADN-protéine ;
- de nombreuses études sur des cellules humaines ont démontré que l'acroléine inhibe directement les protéines impliquées dans les trois voies principales de réparation de l'ADN ;
- ces effets ont été confirmés dans de nombreux systèmes expérimentaux *in vitro*. L'acroléine s'est avérée également induire systématiquement des ruptures de brins d'ADN, des liaisons

croisées ADN-protéine, des mutations et des échanges de chromatides sœurs. L'acroléine a induit des résultats positifs au test d'Ames sans activation métabolique (ligne directrice n° 471 : Essai de mutation réverse sur des bactéries). La mutagénicité de l'acroléine a également été démontrée dans des expériences acellulaires utilisant de l'ADN plasmidique (système SupF transfecté dans des cellules humaines) ;

- induction d'un stress oxydant : l'acroléine induit le stress oxydant. Il n'y a pas de données sur cet effet chez l'Homme, mais de nombreuses études conduites *in vitro* sur des cellules humaines ou de mammifères, en culture ont montré que le traitement par l'acroléine produisait des espèces réactives de l'oxygène et induisait une déplétion en glutathion. De même, des études *in vivo* chez des mammifères ont montré que l'administration d'acroléine par diverses voies entraînait une déplétion en glutathion, une peroxydation lipidique et une carbonylation des protéines. Une augmentation statistiquement significative de la concentration de 8-hydroxy-2'-désoxyguanosine (8-OHdG) a été observée dans le parenchyme pulmonaire de rongeurs après exposition à l'acroléine par voie respiratoire ;
- effet immunosuppresseur : l'acroléine a un effet immunosuppresseur *in vitro* sur des cellules humaines se traduisant par une inhibition de la production de cytokines par les lymphocytes et une diminution de la résistance des macrophages alvéolaires humains à l'infection par *Mycobacterium tuberculosis*. De même, *in vivo*, de nombreuses études conduites chez des rongeurs montrent que l'exposition à l'acroléine diminue les défenses immunitaires et augmente la sensibilité aux infections bactériennes ;
- effet pro-inflammatoire : quel que soit le mode d'exposition, l'acroléine produit une réaction inflammatoire des tissus exposés ;
- effets sur la multiplication cellulaire : *in vitro*, l'acroléine a inhibé des gènes suppresseurs de tumeur et activé des proto-oncogènes. *In vivo*, dans toutes les espèces testées, l'inhalation d'acroléine a induit une hyperplasie, une métaplasie et des dysplasies des épithéliums respiratoires. Des effets semblables ont été observés au niveau du pré-estomac, après ingestion, chez les rongeurs ;
- effets épigénétiques : plusieurs études *in vitro* indiquent un effet inhibiteur de la méthylation de l'ADN par l'acroléine, entraînant une altération de l'assemblage de la chromatine.

En se basant sur la similarité des effets entre l'acroléine et le formaldéhyde (irritations locales suite à une exposition par inhalation, absence d'effets systémiques), l'hypothèse suivante peut être raisonnablement émise : l'effet cancérigène de l'acroléine au niveau de la cavité nasale est induit par le même mécanisme que celui du formaldéhyde. Les effets cancérigènes du formaldéhyde au niveau du nasopharynx sont observés dans un contexte d'expositions répétées à des concentrations élevées, causant préalablement une cytotoxicité se manifestant par des irritations locales. Prévenir ces irritations réduirait ainsi le risque de développement de cancer.

Pour le formaldéhyde et l'acétaldéhyde, les données *in vitro/in vivo* de génotoxicité et de cancérigénicité permettent de poser l'hypothèse argumentée d'un mécanisme à seuil de dose pour la cancérigénicité de ces deux aldéhydes. En revanche, on ne dispose pas des informations correspondantes pour les effets cancérigènes de l'acroléine mais seulement d'un nombre limité d'études *in vivo* chez l'animal sur les paramètres génotoxiques et qui sont généralement négatives.

Le CES recommande donc, en l'absence de données permettant d'établir que les effets cancérigènes de l'acroléine sont à seuil de dose, de faire l'hypothèse, par défaut, de l'absence d'un seuil pour l'acroléine et suggère de réaliser de nouvelles études *in vivo* de génotoxicité et cancérigénicité pour lever cette incertitude.

8.1 VTR cancérigène par voie respiratoire

Une seule étude de cancérigénicité chez l'animal a été identifiée : Matsumoto *et al.* (Matsumoto *et al.*, 2021). Cette étude, décrite précédemment, visait à étudier la cancérigénicité de l'acroléine chez le rat et la souris, mâles et femelles, dans le cadre d'une étude par inhalation de deux ans (cf. §3.6). Elle renseigne sur la survie, les poids corporels et la caractérisation des lésions néoplasiques et non néoplasiques chez les rats et les souris mâles et femelles.

Chez le rat, des lésions néoplasiques et non-néoplasiques ont été observées chez les mâles et les femelles à la dose la plus élevée de 2 ppm (4,6 mg/m³) :

- une augmentation de l'incidence du rhabdomyome a été observé dans la cavité nasale des rats femelles exposés à 2 ppm d'acroléine. Cette tumeur, provenant du muscle strié, est très rare dans la cavité nasale chez l'Homme (Wurm *et al.*, 2005) et chez le rat. Ce type de tumeur est bénin et, par conséquent, la pertinence pour la cancérigénicité est discutable ;
- à 2 ppm, un carcinome spinocellulaire (ou carcinome épidermoïde) a été observé chez les mâles, 2 carcinomes spinocellulaires (ou carcinome épidermoïde) chez les femelles, aucun dans les autres groupes. Même s'il n'y a pas de différence statistiquement significative par rapport au groupe contrôle et en l'absence de relation dose-réponse, cette tumeur néoplasique est très rare (données historiques du JBRC : 0%) est à prendre en considération.

Dans la présentation des résultats et les calculs statistiques, le JBRC et Matsumoto *et al.* combinent le rhabdomyome et le carcinome spinocellulaire, ce qui mène à un test de tendance positif. Le CIRC reprend cette combinaison. Cependant, selon les critères CIRC, les tumeurs bénignes peuvent être combinées avec les tumeurs malignes dans l'évaluation de l'incidence lorsque :

- elles apparaissent en même temps que les tumeurs malignes dans un même organe ou tissu et qu'elles proviennent du même type de cellules dans une étude particulière ;
- elles semblent représenter une étape dans la progression vers la malignité.

Ces critères ne sont pas remplis : le rhabdomyome est une tumeur bénigne très rare dérivée des cellules musculaires striées et le carcinome spinocellulaire est une tumeur maligne agressive qui naît dans les cellules épithéliales squameuses.

Bien que l'étude de Matsumoto *et al.* de 2021 soit de bonne qualité, celle-ci ne montre pas d'augmentation de l'incidence de tumeurs pour des concentrations inférieures à la plus forte concentration testée et ces données de cancérigénicité sur deux espèces ne montrent pas de relation dose-réponse. En l'absence de données permettant d'établir que les effets cancérigènes de l'acroléine sont à seuil de dose, le CES considère par défaut une absence

de seuil pour l'acroléine. Par ailleurs, à partir de cette étude, il n'est pas possible de dériver un excès de risque unitaire (ERU). Sur la base de ces éléments, le CES conclut qu'il n'est pas possible au regard des données disponibles de construire une VTR sans seuil pour un effet cancérigène de l'acroléine. Afin de pallier ce manque de données adéquates, le CES recommande que des études complémentaires soient réalisées pour obtenir de telles données.

9 Conclusions du CES

Trois VTR ont été élaborées et sont résumées dans le Tableau 21 :

- une VTR court terme : celle élaborée par l'ATSDR, étant de bonne qualité et répondant aux exigences de l'Anses en termes de méthode de construction, est retenue en tant que VTR aiguë. Un niveau de confiance fort a été attribué à cette VTR. Le CES attire cependant l'attention sur le fait que cette VTR ne protège pas d'effets liés à d'éventuels pics d'exposition ;
- une VTR moyen terme par voie respiratoire basée sur des lésions de l'épithélium respiratoire supérieur chez des rats. Un niveau de confiance fort a été attribué à cette VTR ;
- une VTR long terme par voie respiratoire basée sur des lésions de l'épithélium respiratoire supérieur chez des rats. Un niveau de confiance fort a été attribué à cette VTR.

Le CES ne propose pas de VTR cancérogène sans seuil pour l'acroléine en l'absence de données adéquates. Des études complémentaires *in vivo* de génotoxicité et cancérogénicité devront être réalisées pour obtenir ces données.

Pour rappel, dans le cadre des VTR et en lien avec les scénarios généralement pris en compte en évaluation des risques sanitaires chez l'Homme, l'Anses distingue trois types de durée d'exposition :

- pour les expositions aiguës, de 1 à 14 jours. Pour les substances irritantes telles que l'acroléine, le CES décide de retenir une durée d'application de 24 heures ;
- pour les expositions subchroniques, de 15 à 364 jours ;
- pour les expositions chroniques, à partir de 365 jours.

Tableau 21 : VTR court, moyen et long termes et cancérrogène par voie respiratoire pour l'acroléine

Type de VTR	Organisme	Effet critique (étude clé)	Point de départ	UF	VTR
VTR court terme	ATSDR (2007)	Irritation nasale et de la gorge, diminution de la fréquence respiratoire Weber-Tschopp <i>et al.</i> , 1977 : étude réalisée chez des volontaires sains	LOAEC 0,3 ppm	100	VTR = 6,9 $\mu\text{g.m}^{-3}$ (3 ppb)
				UF _H 10 UF _L 10	Niveau de confiance Fort
VTR moyen terme	Anses (2019)	Lésion de l'épithélium respiratoire supérieur chez des rats Fisher adultes Dorman <i>et al.</i> , 2008 : étude 13 semaines chez des rats mâles	LOAEC = 0,6 ppm NOAEC = 0,2 ppm <u>Ajustement temporel</u> NOAEC _{ADJ} = 0,036 ppm (0,08 mg.m ⁻³) <u>Ajustement allométrique</u> NOAEC _{ADJ HEC} = 0,0048 ppm	25	VTR = 0,44 $\mu\text{g.m}^{-3}$ (0,2 ppb)
				UF _{A-TD} 2,5 UF _H 10 UF _{LB} 1	Niveau de confiance Fort
VTR long terme	Anses (2022)	Inflammation de l'épithélium respiratoire et hyperplasie de l'épithélium respiratoire chez les souris femelles Mastumoto <i>et al.</i> , 2021 : étude 104 semaines chez le rat et la souris	LOAEC = 0,4 ppm NOAEC = 0,1 ppm <u>Ajustement temporel</u> NOAEC _{ADJ} = 0,018 ppm (0,04 mg.m ⁻³) <u>Ajustement allométrique</u> NOAEC _{ADJ HEC} = 0,002 ppm (0,005 mg.m ⁻³)	25	0,2 $\mu\text{g.m}^{-3}$ (8.10⁻² ppb)
				UF _{A-TD} 2,5 UF _H 10 UF _{LB} 1	Niveau de confiance Fort
VTR cancérrogène	Anses (2022)	Le CES n'a pas identifié, dans la littérature, de données quantitatives de qualité suffisante sur des expositions chroniques par inhalation permettant de construire une VTR cancérrogène malgré l'existence d'effet cancérrogène.			

Date de validation du rapport d'expertise collective par le comité d'experts spécialisé : le 10 mars 2022

10 Bibliographie

Date de fin de la bibliographie : 29/11/2021

- Afsset (Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail)¹³ (2007a). En partenariat avec le CSTB. Valeurs guides de qualité d'air intérieur : document cadre et éléments méthodologiques. (Afsset, Maisons-Alfort) 53 p.
- Afsset (Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail) (2007b) Propositions de Valeurs Guides de qualité d'Air Intérieur. Formaldéhyde. (Afsset, Maisons-Alfort) 78p.
- Afsset (Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail) (2008) Evaluation des risques sanitaires liés à la présence de formaldéhyde dans les environnements intérieurs et extérieurs. Toxicité du formaldéhyde. Etat des connaissances sur la caractérisation des dangers et choix des valeurs toxicologiques de référence. (Afsset, Maisons-Alfort) 79p.
- Afsset (Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail) (2010) Spirales antimoustiques. Risques sanitaires liés à l'exposition aux émissions de fumées. (Afsset, Maisons-Alfort) 137p.
- Alarie Y. (1973) Sensory irritation by airborne chemicals. *CRC Crit Rev Toxicol.* 2(3):299-363.
- Annesi-Maesano I, Hulin M, Lavaud F, Raheison C, Kopferschmitt C, de Blay F, André Charpin D, Denis C. (2012) Poor air quality in classrooms related to asthma and rhinitis in primary schoolchildren of the French 6 Cities Study. *Thorax.* 67(8):682-8.
- Anses (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire Alimentation Environnement Travail) (2011) Proposition de valeurs guides de qualité d'air intérieur. Evolution de la méthode d'élaboration des valeurs guides de qualité d'air intérieur. (Anses, Maisons-Alfort) 79 p.
- Anses (2020). Valeurs toxicologiques de référence (VTR). Elaboration de VTR par voie respiratoire pour l'acroléine (CAS n°107-02-8). (Anses, Maisons-Alfort) 100 p.
- Arrêté du 19 mai 2004 relatif au contrôle de la mise sur le marché des substances actives biocides et à l'autorisation de mise sur le marché des produits biocides.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) (2007) Toxicological profile for acrolein. (ATSDR, Atlanta, Georgia) 227 p.
- Banerjee S. and Annesi-Maesano I. (2012). Spatial variability of indoor air pollutants in schools. A multilevel approach. *Atmospheric Environmen*; 61: 558-561.
- Bein K, Leikauf GD. (2011) Acrolein - a pulmonary hazard. *Mol Nutr Food Res.* 55(9):1342-60.
- Belkebir E, Rousselle C, Duboudin C, Bodin L, Bonvallot N. (2011) Haber's rule duration adjustments should not be used systematically for risk assessment in public health decision-making. *Toxicol Lett*204 (2-3):148-55.
- Billionnet C, Gay E, Kirchner S, Leynaert B, Annesi-Maesano I. (2011) Quantitative assessments of indoor air pollution and respiratory health in a population-based sample of French dwellings. *Environ Res*111(3):425-34.
- Bonnemain B. Poison gas and the first World War: key role of pharmacists *Rev Hist Pharm (Paris).* 2016 Jun;64(390):175-192).
- Buckley LA, Jiang XZ, James RA, Morgan KT, Barrow CS. (1984) Respiratory tract lesions induced by sensory irritants at the RD50 concentration. *Toxicol Appl Pharmacol*74(3):417-29.

¹³ Depuis le 01/07/2010 l'Afssa et l'Afsset ont fusionné pour créer l'Anses, agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail.

- Cassee FR, Groten JP, Feron VJ. (1996a) Changes in the nasal epithelium of rats exposed by inhalation to mixtures of formaldehyde, acetaldehyde, and acrolein. *Fundam Appl Toxicol.* 29(2):208-18.
- Cassee FR, Arts JH, Groten JP, Feron VJ. (1996b) Sensory irritation to mixtures of formaldehyde, acrolein, and acetaldehyde in rats. *Arch Toxicol.* 70(6):329-37.
- Circulaire interministérielle N°DGS/SD7B/2005/273 du 25 février 2005 relative à la prise en compte des effets sur la santé de la pollution de l'air dans les études d'impact des infrastructures routières
- CE (Commission européenne) (2001) European Union Risk Assessment Report. Acryaldehyde. Office for Official Publications of the European Communities, No. EUR 19728 EN (Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg) Joint Research Centre 109 p.
- CE (Commission européenne) (2005) Critical Appraisal of the Setting and Implementation on Indoor Exposure Limits in European Union. The Index Project. Final Report.
- CIRC (Centre International de Recherche sur le Cancer) (1995) IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 63. Dry Cleaning, Some Chlorinated Solvents and Other Industrial Chemicals. Acrolein p337-372 (IARC, Lyon) 551p.
- CIRC (2019). IARC Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans. Preamble. (IARC, Lyon) 44p.
- CIRC (2021). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 128. Acrolein, crotonaldehyde and arecoline. Acrolein p45-1782 (IARC, Lyon) 347p.
- CITEPA (Centre Interprofessionnel Technique d'Études de la Pollution Atmosphérique) (2011) Inventaire des émissions de polluants atmosphériques et de gaz à effet de serre en France – séries sectorielles et analyse étendue. Format SECTEN. 328 p.
- Cohen SM, Garland EM, St John M, Okamura T, Smith RA. (1992) Acrolein initiates rat urinary bladder carcinogenesis. *Cancer Res.* 1;52(13):3577-81.
- Conklin DJ, Haberzettl P, Jagatheesan G, Kong M, Hoyle GW. Role of TRPA1 in acute cardiopulmonary toxicity of inhaled acrolein. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2017 Jun 1 ; 324:61-72.
- Corley RA, Kabilan S, Kuprat AP, Carson JP, Minard KR, Jacob RE, Timchalk C, Glenny R, Pipavath S, Cox T, Wallis CD, Larson RF, Fanucchi MV, Postlethwait EM, Einstein DR. (2012) Comparative computational modeling of airflows and vapor dosimetry in the respiratory tracts of rat, monkey, and human. *Toxicol Sci.* 128(2):500-16
- Costa DL, Kutzman RS, Lehmann JR, Drew RT. (1986) Altered lung function and structure in the rat after subchronic exposure to acrolein. *Am Rev Respir Dis.* 133(2):286-91.
- Daimon M, Sugiyama K, Kameda W, Saitoh T, Oizumi T, Hirata A, Yamaguchi H, Ohnuma H, Igarashi M, Kato T. (2003) Increased urinary levels of pentosidine, pyrrolidine and acrolein adduct in type 2 diabetes. *Endocr J.* 50(1):61-7.
- Darley EF, Middleton JT, Garber J. (1960) Plant damage and eye irritation from ozone-hydrocarbon reactions. *Agricultural and food chemistry.* 8(6) :483-485
- DeCastro R. (2014). Acrolein and asthma attack prevalence in a representative sample of the United States adult population 2000-2009. *PLoS One.* 2014 May 9;9(5).
- Delmas MC, Leynaert B, Com-Ruelle L, Annesi-Maesano I, Fuhrman C. (2008) Asthme : prévalence et impact sur la vie quotidienne. Résumé de l'analyse des données de l'enquête décennale santé 2003 de l'Insee. Collection « Maladies chroniques et traumatismes ». Février 2008. (http://www.invs.sante.fr/publications/2008/asthme/Resume_SCI_Asthme%202003_Web.pdf, date de consultation 19/10/2012)
- Directive 67/548/CEE modifiée du 27 juin 1967 concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses
- Directive européenne 98/8/CE du parlement européen et du conseil du 16 février 1998 concernant la mise sur le marché des produits biocides

- Directive 2010/5/UE de la commission du 8 février 2010 modifiant la directive 98/8/CE du Parlement européen et du Conseil aux fins de l'inscription de l'acroléine en tant que substance active à l'annexe I de ladite directive
- Dorman DC, Struve MF, Wong BA, Marshall MW, Gross EA, Willson GA. (2008) Respiratory tract responses in male rats following subchronic acrolein inhalation. *Inhal Toxicol.*20(3):205-16.
- Dwivedi AM, Johanson G, Lorentzen JC, Palmberg L, Sjögren B, Ernstgård L. Acute effects of acrolein in human volunteers during controlled exposure. *Inhal Toxicol.* 2015;27(14):810-21.
- Faroon O, Roney N, Taylor J, Ashizawa A, et al. (2008) Acrolein environmental levels and potential for human exposure. *Toxicology and Industrial Health* 24(8), 543-564.
- Feron VJ, Kruysse A, Til HP, Immel HR. (1978) Repeated exposure to acrolein vapour: subacute studies in hamsters, rats and rabbits. *Toxicology.*9(1-2):47-57.
- Graboski MS, McCormick RL (1998) Combustion of fat and vegetable oil derived fuels in diesel engines. *Progress in Energy and Combustion Science* 24(2), 125-164.
- Gilbert, N. L., M. Guay, et al. (2005). Levels and determinants of formaldehyde, acetaldehyde, and acrolein in residential indoor air in Prince Edward Island, Canada. *Environmental Research* 99(1): 11-17.
- Hazari M.S., Griggs J., Winsett D.W., Haykal-Coates N., Ledbetter A., Costa D.L., Farraj A.K. A single exposure to acrolein desensitizes baroreflex responsiveness and increases cardiac arrhythmias in normotensive and hypertensive rats.
- Hecht SS. (1999) Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *J Natl Cancer Inst.* 91(14):1194-210.
- Henning, R. J., Johnson, G. T., Coyle, J. P., & Harbison, R. D. (2017). Acrolein Can Cause Cardiovascular Disease: A Review. *Cardiovascular Toxicology*, 17(3), 227–236.
- HSDB (2009) Acrolein. <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/f?/.temp/~mQBW80:1> – date consultation 2012
- INERIS (Institut national de l'environnement industriel et des risques) (2008a) Seuils de Toxicité aiguë. Acroléine. Rapport d'étude N°04DR191. (INERIS, Verneuil en Hallatte) 54p
- INRS (Institut National de Recherche et de Sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles) (2021) Fiche Toxicologique n°57. Acroléine. Edition 2021 (INRS, Paris) 12p.
- IPCS (International Programme on Chemical Safety) (2005) Harmonization Project Document No. 2 Chemical-specific adjustment factors for interspecies differences and human variability : guidance document for use of data in dose/concentration assessment. (OMS, Genève) 100p.
- JBRC (2016a). Summary of inhalation carcinogenicity study of acrolein in B6D2F1 mice. Hadano, Japan: Japan Bioassay Research Center, Japan Industrial Safety and Health Association.
- JBRC (2016b). Summary of inhalation carcinogenicity study of acrolein in B6D2F1/Crlj mice (tables). Hadano, Japan: Japan Bioassay Research Center, Japan Industrial Safety and Health Association. Available from: <https://anzeninfo.mhlw.go.jp/user/anzen/kag/pdf/gan/0817TABLE.pdf>, accessed 25 May 2021. [Japanese]
- JBRC (2016c). Summary of inhalation carcinogenicity study of acrolein in B6D2F1/Crlj mice (text). Hadano, Japan: Japan Bioassay Research Center, Japan Industrial Safety and Health Association. Available from: <https://anzeninfo.mhlw.go.jp/user/anzen/kag/pdf/gan/0817MAIN.pdf>, accessed 25 May 2021. [Japanese]
- JBRC (2016d). Summary of inhalation carcinogenicity study of acrolein in F344 rats. Hadano, Japan: Japan Bioassay Research Center, Japan Industrial Safety and Health Association.
- JBRC (2016e). Summary of inhalation carcinogenicity study of acrolein in F344/DuCrjCrlj rats (tables). Hadano, Japan: Japan Bioassay Research Center, Japan Industrial Safety and Health Association. Available from: <https://anzeninfo.mhlw.go.jp/user/anzen/kag/pdf/gan/0816TABLE.pdf>, accessed 25 May 2021. [Japanese]

- JBRC (2016f). Summary of inhalation carcinogenicity study of acrolein in F344/DuCrI CrIj rats (text). Hadano, Japan: Japan Bioassay Research Center, Japan Industrial Safety and Health Association. Available from: <https://anzeninfo.mhlw.go.jp/user/anzen/kag/pdf/gan/0816MAIN.pdf>, accessed 25 May 2021. [Japanese]
- Jeelani R, Chatzicharalampous C, Kohan-Ghadr HR, Awonuga A, Joshi N, Morris RT, Abu-Soud HM. Acrolein, a commonly found environmental toxin, causes oocyte mitochondrial dysfunction and negatively affects embryo development. *Free Radic Res.* 2018 Jun 11:1-191. doi: 10.1080/10715762.2018.1487559. [Epub ahead of print].
- Katragadda, H. R., Fullana A., et al. (2010). Emissions of volatile aldehydes from heated cooking oils. *Food Chemistry.* 120(1): 59-65.
- Kimbell JS, Subramaniam RP. (2001) Use of computational fluid dynamics models for dosimetry of inhaled gases in the nasal passages. *Inhal Toxicol.* 2001 May;13(5):325-34.
- Kurhanewicz N, Ledbetter A, Farraj A, Hazari M. TRPA1 mediates the cardiac effects of acrolein through parasympathetic dominance but also sympathetic modulation in mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2018 May 15;347:104-114.
- Kutzman RS, Wehner RW, Haber SB. (1984) Selected responses of hypertension-sensitive and resistant rats to inhaled acrolein. *Toxicology.* 31(1):53-65.
- Kutzman RS, Popenoe EA, Schmaeler M, Drew RT. (1985) Changes in rat lung structure and composition as a result of subchronic exposure to acrolein. *Toxicology.*34(2):139-51.
- Kutzman RS, Wehner RW, Haber SB. (1986) The impact of inhaled acrolein on hypertension-sensitive and resistant rats. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 6(5-6):97-108.
- Lam C W, Casanova M, Heck HD. (1985). Depletion of nasal mucosal glutathione by acrolein and enhancement of formaldehyde-induced DNA-protein cross-linking by simultaneous exposure to acrolein. *Arch Toxicol.* 1985 Dec;58(2):67-71.
- Leikauf GD. (1992) Mechanisms of aldehyde-induced bronchial reactivity: role of airway epithelium. *Res Rep Health Eff Inst.* (49):1-35.
- Leung G, Sun W, Zheng L, Brookes S, Tully M, Shi R. (2011) Anti-acrolein treatment improves behavioral outcome and alleviates myelin damage in experimental autoimmune encephalomyelitis mouse. *Neuroscience.* 173:150-5.
- Lin TC, Krishnaswamy G, Chi DS. (2008) Incense smoke: Clinical, structural and molecular effects on airway disease. *Clinical and Molecular Allergy* 6 : 3.
- Lopachin RM, Gavin T, Barber DS. (2008) Type-2 alkenes mediate synaptotoxicity in neurodegenerative diseases. *Neurotoxicology.* 29(5):871-82.
- Lovell MA, Xie C, Markesbery WR. (2001) Acrolein is increased in Alzheimer's disease brain and is toxic to primary hippocampal cultures. *Neurobiol Aging.*22(2):187-94.
- Lyon JP, Jenkins LJ Jr, Jones RA, Coon RA, Siegel J. (1970) Repeated and continuous exposure of laboratory animals to acrolein. *Toxicol Appl Pharmacol.*17(3):726-32.
- Matsumoto M, Yamano S, Senoh H, Umeda Y, Hirai S, Saito A, Kasai T, Aiso S. (2021). Carcinogenicity and chronic toxicity of acrolein in rats and mice by two-year inhalation study. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2021 Apr;121:104863.
- Moretto N, Volpi G, Pastore F, Facchinetti F. (2012) Acrolein effects in pulmonary cells: relevance to chronic obstructive pulmonary disease. *Ann N Y Acad Sci.* 2012 Jul;1259:39-46.
- Morris JB, Stanek J, Gianutsos G. (1999) Sensory nerve-mediated immediate nasal responses to inspired acrolein. *J Appl Physiol.*87(5):1877-86.
- Morris JB, Symanowicz PT, Olsen JE, Thrall RS, Cloutier MM, Hubbard AK. (2003) Immediate sensory nerve-mediated respiratory responses to irritants in healthy and allergic airway-diseased mice. *J Appl Physiol.*94(4):1563-71.

- NRC (National Research Council) (2010) Acute Exposure Guideline Levels for Selected Airborne Chemicals: Volume 8. Chapter 1. Acrolein. Acute Exposure Guideline Levels p13-48 (The National Academies Press, Washington, D.C.) 448 p.
- NRL (Naval Research Laboratory) (2006). Passive Badge Assessment for Long-term, Low-level Air Monitoring on Submarines: Acrolein Badge Validation. NRL/MR/6100--06-8969
- O'Brien E, Spiess PC, Habibovic A, Hristova M, Bauer RA, Randall MJ, Poynter ME, van der Vliet A. (2016). J Inhalation of the reactive aldehyde acrolein promotes antigen sensitization to ovalbumin and enhances neutrophilic inflammation. *Immunotoxicol.*13(2):191-7.
- OEHHA (Office of Environmental Health Hazard Assessment) (OEHHA) (2008) Acrolein Reference Exposure Level. Appendix D1. Technical Support Document. Air Toxics Hot Spots Program Technical Support Document for the Derivation of Noncancer Reference Exposure Levels p42-67 (OEHHA, Oakland, California) 131p.
- OQAI (Observatoire de la qualité de l'air intérieur) (2006). Campagne nationale Logements : État de la qualité de l'air dans les logements français, Rapport final référencé DDD/SB-2006-57, Kirchner S., Arenes J-F., Cochet C. et al. ; Novembre 2006 – 165 pages
- OMS (Organisation Mondiale pour la santé) (1992) Environmental Health Criteria 127. Acrolein. (OMS, Genève) <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc127.htm>
- OMS (Organisation Mondiale pour la santé) (2002) Concise International Chemical Assessment Document 43. Acrolein. (OMS, Genève) 52p.
- OMS (Organisation Mondiale pour la santé) (2000). WHO Air Quality Guidelines for Europe, second edition No.91.
- OMS (Organisation Mondiale pour la santé) (2006). Development of WHO guidelines for indoor air quality, Report on a working group meeting.
- OMS (Organisation Mondiale pour la santé) (2009). WHO guidelines for indoor air quality: dampness and mould. WHO Regional Office for Europe. <http://www.euro.who.int/>
- OMS (Organisation Mondiale pour la santé) (2010). WHO guidelines for indoor air quality: selected pollutants. WHO European Centre for Environment and Health, Bonn Office. WHO Regional Office for Europe. 484 p. http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0009/128169/e94535.pdf
- Ontario Ministry of the Environment (2009) Ontario air standards for acrolein. (Ontario) 111 p.
- Park YS, Taniguchi N. (2008) Acrolein induces inflammatory response underlying endothelial dysfunction: a risk factor for atherosclerosis. *Ann N Y Acad Sci.*1126:185-9.
- Perez CM, Hazari MS, Ledbetter AD, Haykal-Coates N, Carll AP, Cascio WE, Winsett DW, Costa DL, Farraj AK *Inhal Toxicol.* (2015). 27(1):54-63. Acrolein inhalation alters arterial blood gases and triggers carotid body-mediated cardiovascular responses in hypertensive rats doi: 10.3109/08958378.2014.984881.
- Règlement 1272/2008 relatif à la classification, l'étiquetage et l'emballage des substances et des mélanges (CLP).
- RIVM (2007) Health-based guideline values for the indoor environment. No. 609021044/2007, Bilthoven, The Netherlands
- Roux E, Hyvelin JM, Savineau JP, Marthan R. (1999) Human isolated airway contraction: interaction between air pollutants and passive sensitization. *Am J Respir Crit Care Med.* 160(2):439-45.
- Santé Canada (1987) Directives d'exposition concernant la qualité de l'air des résidences. Rapport du Comité consultatif fédéral-provincial de l'hygiène du milieu et du travail. (Santé Canada, Ottawa, Ontario) 26 p.
- Santé Canada et Environnement Canada (2000) Liste des substances d'intérêt prioritaire, Rapport d'évaluation. Acroléine. (Environnement Canada et Santé Canada, Québec) 68p.
- Seaman V. Y., Bennett D. H. and Cahill T. M. (2007). Origin, occurrence, and source emission rate of acrolein in residential indoor air. *Environ. Sci. Technol.* 41 : 6940-6946.

- Seaman, V. Y., Bennett D. H., et al. (2009). Indoor acrolein emission and decay rates resulting from domestic cooking events. *Atmospheric Environment* 43(39): 6199-6204.
- Selmanoğlu G, Karacaoğlu E. Acrolein-mediated neurotoxicity in growing Wistar male rats. *Pestic Biochem Physiol.* 2018 ; 149:37-43.
- Sithu SD, Srivastava S, Siddiqui MA, Vladykovskaya E, Riggs DW, Conklin DJ, Haberzettl P, O'Toole TE, Bhatnagar A, D'Souza SE. (2010) Exposure to acrolein by inhalation causes platelet activation. *Toxicol Appl Pharmacol.*248(2):100-10.
- Shamoto-Nagai M, Maruyama W, Hashizume Y, Yoshida M, Osawa T, Riederer P, Naoi M. (2007) In parkinsonian substantia nigra, alpha-synuclein is modified by acrolein, a lipid-peroxidation product, and accumulates in the dopamine neurons with inhibition of proteasome activity. *J Neural Transm.* 114(12):1559-67.
- Sheldon LS, Clayton A, Jones B, et al. (1992). Indoor Pollutant Concentrations and Exposures. Final report. Sacramento, CA: California Air Resources Board. 338 p.
- Snow SJ, McGee MA, Henriquez A, Richards JE, Schladweiler MC, Ledbetter AD, Kodavanti UP. Respiratory Effects and Systemic Stress Response Following Acute Acrolein Inhalation in Rats. *Toxicol Sci.* 2017 Aug 1;158(2):454-464.
- Steinhagen WH, Barrow CS. (1984) Sensory irritation structure-activity study of inhaled aldehydes in B6C3F1 and Swiss-Webster mice. *Toxicol Appl Pharmacol.*72(3):495-503.
- Stevens JF, Maier CS. (2008) Acrolein: sources, metabolism, and biomolecular interactions relevant to human health and disease. *Mol Nutr Food Res.*52(1):7-25.
- Sthijns MM, Randall MJ, Bast A, Haenen GR. Adaptation to acrolein through upregulating the protection by glutathione in human bronchial epithelial cells: the materialization of the hormesis concept *Biochem Biophys Res Commun.* 2014 Apr 18;446(4):1029-34.
- Sun Y, Ito S, Nishio N, Tanaka Y, Chen N, Liu L, Isobe K. Enhancement of the acrolein-induced production of reactive oxygen species and lung injury by GADD34. *Oxid Med Cell Longev.* 2015. 2015:170309.
- TCEQ (Texas Commission on Environmental Quality) (2010) Acrolein. CAS Registry Number : 107-02-8. Development Support Document. (TCEQ, Texas) 36 p.
- Thompson LC, Ledbetter AD, Haykal-Coates N, Cascio WE, Hazari MS, Farraj AK. Acrolein Inhalation Alters Myocardial Synchrony and Performance at and Below Exposure Concentrations that Cause Ventilatory Responses. *Cardiovasc Toxicol.* 2017 Apr;17(2):97-108.
- US EPA (US Environmental Protection Agency) (2003) Toxicological review of acrolein (CAS No. 107-02-8) in support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS). EPA/635/R-03/003. May 2003. (US EPA, Washington DC) 98 p.
- Wang HT, Lin JH, Yang CH, Haung CH, Weng CW, Maan-Yuh Lin A, Lo YL, Chen WS, Tang MS. (2017). Acrolein induces mtDNA damages, mitochondrial fission and mitophagy in human lung cells. *Oncotarget.* 31;8(41):70406-70421.
- Weber-Tschopp A, Fischer T, Gierer R, Grandjean E. (1977) [Experimentally induced irritating effects of acrolein on men (author's transl)]. *Int Arch Occup Environ Health.* 40(2):117-30. German.
- Wurm et al. (2005). Rhabdomyosarcomas of the nose and paranasal sinuses: treatment results in 15 cases. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005 Jul ; 133(1):42-50.
- Yamate J, Tajima M, Kudow S, Sannai S. (1990). Background pathology in BDF 1 mice allowed to live out their life-span. *Lab Anim.* 1990 Oct;24(4):332-40.
- Yang Y, Zhang Z, Zhang H, Hong K, Tang W, Zhao L, Lin H, Liu D, Mao J, Wu H, Jiang H. (2017). Effects of maternal acrolein exposure during pregnancy on testicular testosterone production in fetal rats. *Mol Med Rep.* 16(1):491-498.

- Yao L, Wu YT, Tian GX, Xia CQ, Zhang F, Zhang W. (2017). Acrolein Scavenger Hydralazine Prevents Streptozotocin-Induced Painful Diabetic Neuropathy and Spinal Neuroinflammation in Rats. *Anat Rec (Hoboken)*. ; 300(10):1858-1864.
- Yeager RP, Kushman M, Chemerynski S, Weil R, Fu X, White M, Callahan-Lyon P, Rosenfeldt H. (2016). Proposed Mode of Action for Acrolein Respiratory Toxicity Associated with Inhaled Tobacco Smoke *Toxicol Sci.* 151(2):347-64.
- Zhang S, Chen H, Wang A, Liu Y, Hou H, Hu Q. (2017). Assessment of genotoxicity of four volatile pollutants from cigarette smoke based on the in vitro γ H2AX assay using high content screening. *Environ Toxicol Pharmacol.* 55:30-36.
- Xi J, Hu Q, Zhao L, Si Molecular Binding Contributes to Concentration Dependent Acrolein Deposition in Rat Upper Airways: CFD and Molecular Dynamics Analyses. *XA4Int J Mol Sci.* 2018 Mar 27;19(4). pii: E997. doi: 10.3390/ijms19040997).
- Xiong R, Wu Q, Muskhelishvili L, Davis K, Shemansky JM, Bryant M, Rosenfeldt H, Healy SM, Evaluating mode of action of acrolein toxicity in an in vitro human airway tissue model. 2018 Sep 10. doi: 10.1093/toxsci/kfy226.

ANNEXES

Annexe 1 : Suivi des actualisations du rapport

Date	Page	Description de la modification
10/03/2022		Mise à jour du chapitre 1 précisant le périmètre de la révision et l'organisation de l'expertise associée
10/03/2022	16	Ajout de la référence du CIRC (2021)
10/03/2022	20	Mise à jour de la figure 1 (INRS 2021)
10/03/2022	32-33	Chapitre 3.3.2 : mise à jour dont ajout de la description de l'étude de Matsumoto <i>et al.</i> de 2021.
10/03/2022	39	Chapitre 3.3 : Mise à jour du chapitre sur la génotoxicité.
10/03/2022	40	Chapitre 3.6 : Mise à jour du chapitre sur la cancérogénicité.
10/03/2022	43-45	Mise à jour du tableau 10, ajout de la référence Matsumoto <i>et al.</i> de 2021.
10/03/2022	46-48	Mise à jour du chapitre 3.7 sur les mécanismes d'action
10/03/2022	68-71	Mise à jour du chapitre 7
10/03/2022	72-75	Ajout d'un chapitre 8 relatif à la proposition de VTR cancérogène
10/03/2022	76-77	Mise à jour du chapitre 9 conclusion

Annexe 2 : Valeurs de référence proposées précédemment par l'Anses

- VGAI (Anses, 2012)

En 2012, l'Anses a proposé des VGAI court et long termes pour l'acroléine.

Tableau 22 : VGAI court et long termes pour l'acroléine (Anses, 2012)

	Références	Effet critique	VGAI	Durée d'exposition
VGAI court terme	ATSDR, 2007 (Weber-Tschopp <i>et al.</i> , 1977)	Irritation nasale et de la gorge, diminution de la fréquence respiratoire	6,9 µg.m⁻³ (3 ppb)	1 heure
VGAI long terme	Dorman <i>et al.</i> , 2008	Lésions de l'épithélium respiratoire supérieur	0,8 µg.m⁻³ (0,35 ppb)	Annuelle

- VGAI court terme

Lors de la proposition de VGAI pour l'acroléine publiée en 2012, une valeur guide de l'OMS et deux VTR court terme par inhalation étaient disponibles : celle de l'OEHHA (2008) et celle de l'ATSDR (2007).

Le GT VGAI **n'avait pas retenu la valeur guide de l'OMS** établie en 1992 considérant que sa construction n'est pas suffisamment justifiée. Le GT VGAI **n'a pas retenu la VTR de l'OEHHA** considérant la LOAEC issue d'une expérience réalisée avec des concentrations croissantes d'acroléine non fiable du fait de difficultés métrologiques (Weber-Tschopp *et al.*, 1977).

Le GT VGAI avait retenu la VTR court terme de l'ATSDR pour proposer une VGAI court terme pour l'acroléine jugeant celle-ci de bonne qualité (cf. argumentaire en §5.2). Comme des effets sont observés chez des volontaires sains en l'espace de 60 minutes, le GT VGAI avait retenu un pas de temps d'une heure pour la VGAI court terme.

- VGAI intermédiaire

Lors de la proposition de VGAI pour l'acroléine publiée en 2012, seule l'ATSDR avait proposé une VTR en 2007 pour des expositions subchroniques à l'acroléine à partir d'une étude animale.

L'Anses n'avait pas proposé de VGAI intermédiaire pour l'acroléine pour protéger des effets irritants sur l'appareil respiratoire supérieur. Il avait été considéré que l'effet d'irritation sensorielle était dépendant de la concentration plutôt que de la dose totale et/ou de la durée d'exposition documenté notamment par des études sur le formaldéhyde (Afsset, 2007b). De plus, l'analyse des données concernant l'application de la loi de Haber a permis de préciser la valeur de n dans l'équation simplifiée: $C \times t^n = k$ (Belkebir *et al.*, 2011). Dans le cas de l'acroléine, irritant du tractus respiratoire supérieur avéré, la valeur de « n » est plus élevée que pour les autres irritants ($n = 0,75$) mais toujours inférieure à 1 signifiant que la toxicité serait plus dépendante de la concentration que de la durée d'exposition.

- VGAI long terme

Lors de la proposition de VGAI pour l'acroléine publiée en 2012, quatre VTR long terme par inhalation étaient disponibles: l'OEHHA (2008), l'US EPA (2003), Santé Canada et Environnement Canada (2000) et l'OMS (2002). Les **VTR de Santé Canada et Environnement Canada et de l'OMS n'avaient pas été retenues** car elles se basent sur une étude aiguë (Cassee *et al.*, 1996a).

L'US EPA a retenu l'étude de Feron *et al.* de 1978 qui ne met en évidence des effets à la LOAEC que chez 1 rat sur 12. Le GT VGAI a considéré qu'au vu du faible nombre de rats atteints et en l'absence d'étude statistique réalisée, cette concentration ne peut pas être considérée comme une LOAEC, mais apporte une indication de possibilité d'effet à une concentration proche de cette valeur. De plus, comme indiqué précédemment dans l'analyse des VTR intermédiaires, la toxicité serait plus dépendante de la concentration que de la durée d'exposition pour les irritants sensoriels tels que l'acroléine. De ce fait, le GT VGAI a considéré qu'il n'était pas indiqué d'appliquer un ajustement temporel. **La VTR long terme de l'US EPA n'avait pas été retenue. La VTR long terme de l'OEHHA**, pour laquelle un ajustement temporel a été appliqué, **n'avait pas non plus été retenue** bien que basée sur une étude de bonne qualité.

L'Anses n'avait pas retenu les VTR existantes et a construit une VGAI long terme de 0,8 µg.m⁻³ pour des effets non cancérigènes pour l'acroléine. L'effet critique considéré était les effets irritants sur l'appareil respiratoire supérieur qui conduisent à une lésion de l'épithélium pour des expositions répétées. Deux études, Dorman *et al.* de 2008 et Feron *et al.* de 1978, ont été jugées de bonne qualité et ont été également choisies par des organismes internationaux reconnus dans le cadre de construction de VTR. Le choix de l'étude de Dorman *et al.* de 2008 par rapport à celle de Feron *et al.* de 1978 était basé sur différents paramètres :

- un plus grand nombre d'animaux par test (60 mâles/dose vs 6 animaux/sexe/dose),
- un plus grand nombre de doses testées (5 doses vs 3 doses),
- un plus grand nombre de sections de la cavité nasale examinées (6 sections vs 3),
- la description des données d'incidence contrairement à l'étude de Feron *et al.*,
- la fiabilité du Pod : dans l'étude de Feron *et al.*, les effets observés à la LOAEC n'apparaissent que chez 1 rat sur 12. Au vu du faible nombre de rats atteints et en l'absence d'étude statistique réalisée, cette concentration ne peut pas être considérée comme une LOAEC mais apporte une indication d'effets possibles à une concentration de cet ordre de valeur,
- la date de la publication (2008 vs 1978).

L'étude de Feron *et al.* de 1978 a été réalisée chez les 2 sexes et sur plusieurs espèces (rat, hamster, cobaye) indiquant que le rat est l'espèce la plus sensible. Les résultats de cette étude, et principalement ceux rapportés chez le rat, permettent de supporter le choix de l'étude de Dorman *et al.* comme étude clé.

Dans l'étude de Dorman *et al.* de 2008, des lésions de l'épithélium respiratoire supérieur (hyperplasie, métaplasie squameuse, inflammation) dépendantes de la dose et de la localisation ont

été mises en évidence suite à une exposition d'au moins 4 jours à des concentrations supérieures ou égales à 0,6 ppm, identifié comme une LOAEC. La NOAEC de 0,2 ppm, proposée par les auteurs, a été retenue comme POD.

Aucun ajustement temporel n'a été appliqué en considérant que la toxicité serait plus dépendante de la concentration que de la durée d'exposition pour les irritants sensoriels tels que l'acroléine.

La concentration équivalente humaine a été calculée par ajustement allométrique pour tenir compte des différences dosimétriques entre l'espèce animale et l'Homme, l'acroléine étant considérée comme un gaz de catégorie 1.

Un facteur d'incertitude global de 75 a été fixé pour considérer la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles ($UF_A = 2,5$), la variabilité au sein de l'espèce humaine et des populations sensibles ($UF_H = 10$), l'insuffisance de données relatives aux effets liés à une exposition chronique a conduit à réaliser une extrapolation à partir d'effets subchroniques ($UF_{S/D} = 3$).

- **VTR (Anses, 2020)**

En 2020, l'Anses a proposé 3 VTR par voie respiratoire :

- la VTR court terme (aiguë) élaborée par l'ATSDR étant de bonne qualité et répondant aux exigences de l'Anses en termes de méthode de construction est retenue en tant que VTR court terme.
- des VTR moyen et long termes (subchronique et chronique) basées sur des lésions de l'épithélium respiratoire supérieur chez des rats ont été élaborées, les VTR existantes ayant été jugées non pertinentes au regard de la méthode d'élaboration de l'Anses (Anses, 2017).

Tableau 23 : VTR court, moyen et long termes par voie respiratoire pour l'acroléine (Anses, 2020)

Type de VTR	Organisme (année)	Effet critique (étude clé)	Point de départ	UF	VTR
VTR court terme	ATSDR (2007)	Irritation nasale et de la gorge, diminution de la fréquence respiratoire Weber-Tschopp <i>et al.</i> (1977) : étude réalisée chez l'Homme	LOAEC = 0,3 ppm	100 UF _H = 10 UF _L = 10	6,9 µg.m ⁻³ (3.10 ⁻³ ppm)
					Niveau de confiance Fort
VTR moyen terme	Anses (2019)	Lésion de l'épithélium respiratoire supérieur chez des rats Fisher adultes Dorman <i>et al.</i> (2008)	LOAEC = 0,6 ppm NOAEC = 0,2 ppm <u>Ajustement temporel</u> NOAEC _{ADJ} = 0,036 ppm (0,08 mg.m ⁻³) <u>Ajustement allométrique</u> NOAEC _{HEC} = 0,0048 ppm	25 UF _A = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 1	0,44 µg.m ⁻³ (2.10 ⁻⁴ ppm)
					Niveau de confiance Fort
VTR long terme	Anses (2019)	Lésion de l'épithélium respiratoire supérieur chez des rats Fisher adultes Dorman <i>et al.</i> (2008)	LOAEC = 0,6 ppm NOAEC = 0,2 ppm <u>Ajustement temporel</u> NOAEC _{ADJ} = 0,036 ppm (0,08 mg.m ⁻³) <u>Ajustement allométrique</u> NOAEC _{HEC} = 0,0048 ppm	75 UF _A = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	0,15 µg.m ⁻³ (6.10 ⁻⁵ ppm)
					Niveau de confiance Fort

Annexe 3 : Recherche bibliographique complémentaire

- Sur la période 2014 → 2019 – mots clés

Acrolein

Inhal* / Stud* / Long-term / Acute / Chronic / Subchronic

Effect* / health / toxic*

Etudes chez l'Homme

Human / Occupation* / Workers

Etudes chez l'animal

Mice / mouse / rat / guinea pig / rabbit

Requête SCOPUS

TITLE-ABS-KEY (acrolein)

AND

TITLE-ABS-KEY (inhal*) OR TITLE-ABS-KEY (long-term) OR TITLE-ABS-KEY (acute) OR TITLE-ABS-KEY (chronic) OR TITLE-ABS-KEY (effect*) OR TITLE-ABS-KEY (toxic*))

AND

(TITLE-ABS-KEY (man) OR TITLE-ABS-KEY (human) OR TITLE-ABS-KEY (animal) OR TITLE-ABS-KEY (mice) OR TITLE-ABS-KEY (rat) OR TITLE-ABS-KEY (guinea pig) OR TITLE-ABS-KEY (rabbit))

AND

(LIMIT-TO (PUBYEAR , 2019) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2018) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2017) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2016) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2015) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2014))

AND

(LIMIT-TO (LANGUAGE , "English"))

>>> **32** résultats

Requête PUBMED

((("acrolein"[Supplementary Concept] OR "acrolein"[All Fields]) AND ("inhalation"[All Fields]) AND ("toxicity"[All Fields]))) AND (("2014/01/01"[PDAT] : "2019/12/31"[PDAT]) AND English[lang])

>>> **29** résultats

(acrolein[Title/Abstract] AND inhal*[Title/Abstract] AND acute[Title/Abstract] AND chronic[Title/Abstract] AND human[Title/Abstract]) AND animal[Title/Abstract] AND rat[Title/Abstract] AND rabbit[Title/Abstract] AND mice[Title/Abstract] AND long-term[Title/Abstract] AND guinea pig[Title/Abstract] AND effect*[Title/Abstract] AND mouse[Title/Abstract] AND toxic[Title/Abstract] AND ("2014"[Date - Publication] : "3000"[Date - Publication])) AND english[Language]

- sur la période 2019 → 2021 – mots clés

Acrolein

Inhal* / Stud* / Long-term / Acute / Chronic / Subchronic

Effect* / health / toxic*Etudes chez l'Homme

Human / Occupation* / Workers

Etudes chez l'animal

Mice / mouse / rat / guinea pig / rabbit

Requête SCOPUS

TITLE-ABS-KEY (acrolein)

AND

TITLE-ABS-KEY (inhal*) OR TITLE-ABS-KEY (long-term) OR TITLE-ABS-KEY (acute) OR TITLE-ABS-KEY (chronic) OR TITLE-ABS-KEY (effect*) OR TITLE-ABS-KEY (toxic*))

AND

(TITLE-ABS-KEY (man) OR TITLE-ABS-KEY (human) OR TITLE-ABS-KEY (animal) OR TITLE-ABS-KEY (mice) OR TITLE-ABS-KEY (rat) OR TITLE-ABS-KEY (guinea pig) OR TITLE-ABS-KEY (rabbit))

AND

(LIMIT-TO (PUBYEAR , 2019))

AND

(LIMIT-TO (LANGUAGE , "English"))

>>> **6** résultats**Requête PUBMED**

(("acrolein"[Supplementary Concept] OR "acrolein"[All Fields]) AND ("inhalation"[All Fields]) AND ("toxicity"[All Fields])) AND (("2019/01/01"[PDAT] : "2019/12/31"[PDAT]) AND English[lang]

>>> **12** résultats

Notes



anses

AGENCE NATIONALE DE SÉCURITÉ SANITAIRE
de l'alimentation, de l'environnement et du travail

14 rue Pierre et Marie Curie 94701 Maisons-Alfort Cedex
Tél : 01 42 76 40 40
www.anses.fr — @Anses_fr