



anses

Valeurs toxicologiques
de référence

Le dinitrotoluène

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Octobre 2024

Connaître, évaluer, protéger

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 10 octobre 2024

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

relatif à l'élaboration de VTR long terme par voie orale pour le
2,3-dinitrotoluène (CAS n° 602-01-7), le 2,4-dinitrotoluène (CAS n° 121-14-2), le
2,5-dinitrotoluène (CAS n° 619-15-8), le 2,6-dinitrotoluène (CAS n° 606-20-2), le
3,4-dinitrotoluène (CAS n° 610-39-9) et le 3,5-dinitrotoluène (CAS n° 618-85-9)

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.

Dans le cadre du protocole d'accord entre l'Anses, la Direction générale de la santé (DGS) et la Direction générale de la prévention des risques (DGPR) pour la mise en œuvre du programme de travail d'expertise scientifique en matière de valeurs toxicologiques de référence (VTR), établi en décembre 2022, il a été convenu de réaliser des travaux d'expertise nécessaires à l'élaboration de VTR long terme par voie orale pour les dinitrotoluènes.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Une valeur toxicologique de référence, ou 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 un agent chimique et l'occurrence d'un effet sanitaire indésirable. Par définition, elles sont construites pour protéger l'ensemble de la population, y compris les populations sensibles comme les enfants, des effets d'une substance à la suite d'une exposition court, moyen ou long terme.

Les VTR sont spécifiques d'un agent chimique, d'une voie (orale, respiratoire, cutanée), d'une durée d'exposition (court, moyen ou long terme). Il existe donc des VTR :

- pour des expositions court terme, de 1 à 14 jours ;
- pour des expositions moyen terme, de 15 à 364 jours ;
- pour des expositions long terme, plus de 365 jours.

Elles peuvent être utilisées dans le cadre des évaluations quantitatives de risques sanitaires (EQRS) réalisées à l'échelle populationnelle uniquement 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 ou de teneurs maximales réglementaires dans les aliments. Enfin, elles peuvent également servir à prioriser des agents chimiques en fonction du danger qu'ils représentent, ces valeurs permettant souvent d'évaluer leur toxicité (Anses, à paraître).

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 monotone 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. Pour les effets cancérogènes, il est possible d'établir des VTR à seuil ou sans seuil selon le mode d'action de l'agent chimique étudié (Anses, à paraître).

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

- identifier le ou les organes cibles et l'effet critique sur la base du profil toxicologique ;
- identifier l'hypothèse de construction, à seuil ou sans seuil de dose, en fonction du mode d'action de la substance ;
- réaliser une analyse critique de chacune des VTR recensées afin d'identifier si l'une d'elles peut être retenue (choix). Cette analyse est réalisée en prenant en compte différents critères d'analyse décrits dans le guide méthodologique de l'Anses (Anses, à paraître), tels que la transparence et l'argumentation, les différents choix de construction (choix de l'effet critique, de l'étude clé et du point de départ (PoD) ; utilisation d'ajustements temporel et allométrique ; choix des facteurs d'incertitude pour les effets à seuil de dose ou la méthode d'extrapolation aux faibles doses pour les VTR sans seuil de dose) et l'année d'élaboration ou de révision de la VTR. Quand aucune VTR n'est jugée pertinente, la construction d'une nouvelle VTR est entreprise ;
- choisir une (ou plusieurs) étude(s) clé de bonne qualité scientifique la (ou les) plus pertinente(s) parmi les études épidémiologiques ou toxicologiques permettant d'établir une relation dose-réponse ;
- définir un PoD chez l'Homme ou l'animal à partir de cette(ces) étude(s) ;
- réaliser des ajustements temporels et allométriques si nécessaire ;
- pour une VTR à seuil, appliquer des facteurs d'incertitude (FI) à ce PoD de manière à dériver une VR applicable à l'ensemble de la population ;
- pour une VTR sans seuil, déterminer une pente et/ou des concentrations/doses associées à plusieurs niveaux de risque ;
- fixer un niveau de confiance.

La DGS a confié au laboratoire d'hydrologie de Nancy (LHN) de l'Anses la réalisation d'une campagne nationale exploratoire entre 2020 et 2022, sur les eaux brutes et les eaux traitées, afin de caractériser la présence de pesticides et métabolites de pesticides, de résidus d'explosifs et du 1,4-dioxane au niveau national. Les premiers résultats ont montré la présence, à des concentrations supérieures aux limites de quantification, de plusieurs isomères du dinitrotoluène (DNT), en particulier les 2,3-, 2,6- et 3,4-DNT. Le 2,4-DNT a été retrouvé à des doses moins élevées, mais plus fréquemment.

Dans ce contexte, la DGS a saisi l'Anses le 17 novembre 2022, afin de :

- réaliser une évaluation des risques sanitaires liés à la présence de ces dérivés du DNT dans les EDCH ;
- déterminer une valeur guide sanitaire dans les EDCH (VGS EDCH).

Ainsi, cette expertise a pour objectif de proposer des VTR long terme pour les six isomères du DNT et pour le DNT total, afin de permettre la dérivation de VGS EDCH.

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'expertise relève du domaine de compétences du comité d'experts spécialisé (CES) « Valeurs sanitaires de référence » (CES VSR). L'Anses a confié l'expertise à plusieurs rapporteurs. Les travaux ont été présentés au CES VSR tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques entre le 14 mars et le 27 juin 2024. Ils ont été adoptés par le CES VSR réuni le 27 juin 2024.

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/>.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

Afin de construire des VTR, l'Anses s'appuie sur son guide d'élaboration et de choix de valeurs de référence (Anses, à paraître). Avant l'élaboration des VTR, un recueil de données utiles à la caractérisation des DNT a été réalisé (identification, propriétés physico-chimiques, classifications), ainsi que des informations générales sur les usages, les sources et les expositions et des VTR par voie orale établies par les organismes de sécurité sanitaire reconnus au niveau supranational, européen ou national/régional (cf. chapitre 2 du rapport). Un profil toxicologique a été réalisé afin de définir les effets, observés chez l'Homme et l'animal, liés à différents types d'exposition aux différents isomères du DNT.

3.1. Synthèse des données toxicologiques

La synthèse des données de toxicité par voie orale pour les isomères du DNT a été rédigée sur la base des rapports de synthèse réalisés par des organismes reconnus au niveau

international (ATSDR 2016 ; US EPA 2013 ; IARC 1996) complétés par une revue bibliographique réalisée à partir des bases de données PubMed et Scopus jusqu'à avril 2024 (sans limitation de date).

3.1.1. Toxicocinétique

L'absorption digestive du 2,4-DNT et du 2,6-DNT est rapide et relativement complète chez le rat (Rickert *et al.* 1983). Des études chez le rat, le lapin, le chien et le singe ont montré qu'elle est comprise entre 55 % et 90 %, et a principalement lieu au cours des 24 heures suivant l'administration par voie orale (Long et Rickert 1982 ; Rickert *et al.* 1981 ; Lee *et al.* 1978).

Dans une étude menée sur le rat, il a été montré, qu'après administration orale, les pics de concentrations plasmatique, érythrocytaire, hépatique et rénale du 2,4-DNT et de ses métabolites étaient proportionnels à la dose de 2,4-DNT administrée par voie orale (Rickert *et al.* 1980). Les concentrations dans le foie et les reins étaient 5 à 10 fois plus élevées que celles dans le plasma ou les érythrocytes. Elles étaient inférieures aux concentrations plasmatiques dans les autres tissus.

Le DNT est principalement métabolisé dans le foie et au niveau intestinal (à ce niveau, par le biais de la flore microbienne) (Long et Rickert 1982 ; Rickert *et al.* 1981).

Les études menées chez le rat ont montré que l'excrétion du 2,4-DNT et du 2,6-DNT était principalement urinaire, de 55 % à 90 % (Long et Rickert 1982 ; Rickert *et al.* 1981 ; Medinsky et Dent 1983).

3.1.2. Toxicité aiguë

Aucune étude chez l'Homme évaluant les effets aigus des isomères du DNT après une exposition court terme par voie orale n'a été identifiée.

L'étude de Lent *et al.* a mis en évidence des effets hématotoxiques chez le rat Sprague Dawley, associés à tous les isomères du DNT, après une exposition orale pendant 14 jours. Une diminution du compte des hématies a été observée chez les animaux exposés au 2,4-DNT (LOAEL¹ : 142 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹), au 2,5-DNT (LOAEL : 77 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹), au 2,6-DNT (LOAEL : 14 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) et au 3,4-DNT (LOAEL : 14 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) (Lent *et al.* 2012). Une hématopoïèse extramédullaire a été mise en évidence suite à l'exposition à tous les isomères, avec des LOAEL déterminés à 275 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour le 2,3-DNT, 36 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour le 2,4-DNT, 39 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour le 2,5-DNT, 68 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour le 2,6-DNT, 57 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour le 3,4-DNT et 77 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour le 3,5-DNT. À des doses plus fortes, les auteurs ont également mis en évidence des effets hépatotoxiques (augmentation relative du poids du foie pour les 2,3- et 3,4-DNT et l'apparition de lésions néoplasiques pour les 2,4- et 2,6-DNT), des effets reprotoxiques (augmentation du poids relatif des testicules et apparition de lésions non néoplasiques pour les 2,3-, 3,4-, 2,4- et 2,6-DNT), des atteintes musculaires (2,4-, 3,4- et 2,5-DNT), une néphrotoxicité (augmentation du poids relatif des reins, apparition de lésions non néoplasiques pour les 2,3-, 2,4-, 2,6- et 3,4-DNT), une neurotoxicité et des lésions cardiaques (2,5- et 3,5-DNT).

¹ Lowest Observed Adverse Effect Level

3.1.3. Toxicité subchronique et chronique

Chez l'Homme, seule une étude ancienne a mis en évidence différents symptômes chez des travailleurs exposés pendant 12 mois au 2,4-DNT : fatigue, céphalées, perte d'appétit, vertiges, nausées, insomnie, paresthésies, vomissements, cyanose et anémie. Cependant, l'exposition concomitante à d'autres composés ne pouvant être exclue, l'attribution de ces symptômes au 2,4-DNT est incertaine (McGee *et al.* 1942).

Chez l'animal, des données concernant la toxicité subchronique et chronique du DNT n'ont été identifiées que pour les 2,4- et 2,6-DNT. La plupart des données sont issues d'une série d'études menées pour l'armée américaine sur des souris, des rats et des chiens (Lee *et al.* 1976 ; 1978 ; Ellis *et al.* 1979). Celles-ci ont principalement mis en avant des effets hématologiques, hépatiques et neurologiques.

■ 2,4-DNT

Suite à une exposition moyen terme, des effets hématologiques (anémie, réticulocytose, hémossidérose, apparition de corps de Heinz) ont été observés chez la souris (LOAEL : 468 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹), le rat (LOAEL : 93 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) et le chien (LOAEL : 25 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) (Ellis *et al.* 1979). Une méthémoglobinémie a aussi été mise en évidence chez le rat (LOAEL : 371 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) (Kozuka *et al.* 1979). Suite à une exposition long terme, ces effets, ainsi qu'une diminution du compte des hématies, ont également été observés chez la souris, le rat et le chien, avec des LOAEL respectifs de 898, 3,9 et 0,2 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.

Chez le rat exposé pendant six mois, une augmentation de différents paramètres hépatiques (aspartate aminotransférase, lactate déshydrogénase, phosphatase alcaline, triglycérides) a été mise en évidence (LOAEL : 371 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) (Kozuka *et al.* 1979). Suite à une exposition long terme, une dégénérescence hépatocellulaire, des vacuolisations et altérations cellulaires ont été associées à l'exposition au 2,4-DNT chez le rat (LOAEL : 27 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) (Leonard *et al.* 1987). Des dysplasies hépatocellulaires ont été observées chez des souris exposées 90 jours (légère) et pendant deux ans (LOAEL : 14 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) (Hong *et al.* 1985) et une hyperplasie biliaire chez des chiens exposés pendant 2 ans (LOAEL : 10 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) (Ellis *et al.* 1985).

Plusieurs études ont révélé des effets neurotoxiques sur le contrôle et la coordination des membres postérieurs chez des rats exposés 91 jours (LOAEL : 93 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) ou 6 mois (Kozuka *et al.* 1979 ; Ellis *et al.* 1985), des souris exposées 2 ans (LOAEL : 898 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) (Hong *et al.* 1985) et des chiens exposés 91 jours (LOAEL : 25 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) (Ellis *et al.* 1985), ainsi que des convulsions chez le rat (Kozuka *et al.* 1979 ; Ellis *et al.* 1985).

■ 2,6-DNT

L'armée américaine a mené des tests sur des groupes de 8 chiens Beagle, auxquels ont été administrées quotidiennement des doses de 0, 4, 20 ou 100 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ de 2,6-DNT pendant 13 semaines (Lee *et al.* 1976). Six animaux du groupe le plus exposé sont morts avant la fin de la 8^e semaine et le traitement a été arrêté pour les deux autres après 4 semaines, suite à l'apparition de signes cliniques graves. Une érythropoïèse extramédullaire a été observée à partir de la dose la plus faible. À partir de 20 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, des effets hépatiques (hyperplasie des voies biliaires, modifications dégénératives et inflammatoires), rénaux (tubules dilatés, foyers dégénératifs) et neurologiques (incoordination, perte d'équilibre) ont été mis en évidence.

Chez le rat, une hémossidérose splénique et une hématopoïèse extramédullaire ont été mises en évidence. Ce dernier effet a aussi été associé au 2,6-DNT chez des souris exposées (Lee *et al.* 1976).

Des groupes de rats Sprague Dawley mâles ont été exposés pendant 29 jours, par gavage, au 2,6-DNT (Rothfuss *et al.* 2010). Les effets hépatiques suivants ont été observés chez les animaux du groupe le plus exposé (33 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) : hypertrophie hépatocellulaire diffuse, vacuolisation hépatocellulaire, nécrose unicellulaire et hyperplasie des voies biliaires.

3.1.4. Reprotoxicité et toxicité sur le développement

Les six isomères du DNT sont classés reprotoxiques de catégorie 2 (H361f : susceptible de nuire à la fertilité) par le règlement européen n° 1272/2008 concernant la classification, l'étiquetage et l'emballage des substances et des mélanges (CLP).

■ Reprotoxicité

L'exposition au 2,4-DNT a entraîné une baisse de la fertilité, des atteintes des tubes séminifères des testicules chez des rats (LOAEL : 34,5 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹), des souris (LOAEL : 14 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) et des chiens mâles (LOAEL : 25 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) (Lee *et al.* 1978 ; Ellis *et al.* 1979). Chez le rat femelle, une baisse de la fertilité et des difficultés à la parturition ont été observées (LOAEL : 45,3 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹). Une atrophie ovarienne et des dysfonctionnements folliculaires ont été mis en évidence chez la souris (LOAEL : 898 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹).

Les données concernant le 2,6-DNT sont moins nombreuses et ont montré, suite à des expositions court et moyen termes, des atteintes testiculaires chez le rat (LOAEL : 35 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) et le chien (LOAEL : 20 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹), et une diminution de la spermatogénèse chez la souris (LOAEL : 51 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) et le rat (Lee *et al.* 1976).

Chez des rats mâles exposés 14 jours au 3,5-DNT, une réduction significative de la taille et du poids des testicules, une dégénérescence des tubes séminifères et la formation de cellules géantes polynucléées dans les testicules ont été observées (LOAEL : 19 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) (Lent *et al.* 2012).

■ Toxicité sur le développement

Dans une étude sur trois générations chez le rat CD exposé au 2,4-DNT (Ellis *et al.* 1979), aucune anomalie n'a été observée chez les petits, quelle que soit la génération. La diminution de la viabilité des petits des mères les plus exposées (45,3 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) était le résultat d'une incidence élevée de décès maternels lors de la naissance et d'une négligence maternelle.

Dans une étude de tératogénicité chez des rats femelles F344 gestantes exposées par gavage au DNT de qualité technique (Tg-DNT) et à des doses allant de 14 à 150 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (Price *et al.* 1985), aucun effet significatif n'a été observé sur la croissance ou le développement fœtal. Une légère modification des paramètres hématologiques et une altération du poids de certains organes comme la rate et le foie ont été relevées chez les fœtus des mères exposées, sans qu'une relation dose-réponse soit mise en évidence.

3.1.5. Génotoxicité

Les six isomères du DNT sont classés mutagènes de catégorie 2 (H341 : susceptible d'induire des anomalies génétiques) par le règlement CLP.

Une étude chez des travailleurs, pour lesquels l'inhalation n'était vraisemblablement pas la voie d'exposition principale, a mis en évidence une augmentation significative des aberrations chromosomiques (délétions, translocations, cassures) suggérant un effet clastogène chez les individus exposés au DNT et au TNT (2,4,6-trinitrotoluène) (Sabbioni *et al.* 2006).

Des études portant sur la génotoxicité *in vivo* ont été réalisées pour les différents isomères du DNT (test des comètes, micronoyaux, UDS², spot test). Aucune d'entre elles n'a montré d'effets génotoxiques pour les 2,3-, 2,5- et 3,5-DNT. Si les données concernant le 2,4-DNT n'ont pas toutes montré sa génotoxicité, c'est le cas d'une majeure partie d'entre elles. Les études recensées sont en faveur du caractère génotoxique du 2,6-DNT.

In vitro, des aberrations chromosomiques ont été observées sur des fibroblastes pulmonaires de hamsters chinois exposés au 2,6-DNT (Suzuki *et al.* 2011), ainsi que sur des lymphocytes humains exposés au 2,4-DNT (Huang *et al.* 1996). Des dommages sur l'ADN ont été révélés par le test des comètes sur des cellules de Sertoli de rat exposées au 2,4- ou au 2,6-DNT (Yang *et al.* 2005). Les études portant sur les isomères 2,3-, 2,5-, 3,5- et le Tg-DNT n'ont pas mis en évidence de génotoxicité (Abernethy et Couch 1982 ; Styles et Cross 1983).

Des essais de mutations géniques pour les six isomères du DNT et le Tg-DNT ont été réalisés. Leurs résultats ne sont pas tous concordants et, d'une étude à l'autre, la variation des résultats peut probablement s'expliquer par les différences au niveau de la sensibilité des souches et du besoin d'activation métabolique.

3.1.6. Cancérogénicité

Les six isomères du DNT sont classés cancérogènes de catégorie 1B (H350 : peut provoquer le cancer) par le règlement CLP.

Une étude de cohorte de 421 travailleurs dont les expositions n'ont pas été quantifiées, n'a pas pu mettre en évidence de lien entre l'exposition au 2,4-DNT ou au Tg-DNT et l'apparition de cancer (nombre réduit de cas de cancers) (Levine *et al.* 1986). Dans une autre étude de cohorte rétrospective de 4102 hommes ayant travaillé sur une installation de production de munitions et de moteurs de fusée, une association entre l'exposition au DNT et le risque d'apparition de cancers du foie et des voies biliaires a été observée (Stayner *et al.* 1993). Une hausse significative de la mortalité par cancer hépatobiliaire a été mise en évidence chez les travailleurs exposés par rapport à ceux non exposés. Les auteurs estiment que l'exposition a principalement eu lieu par voie cutanée et par inhalation. Le faible nombre de cas de cancers relevé (6 cas), la durée d'exposition relativement courte (moins de 4 mois pour la moitié des cas) et l'exposition probable à d'autres substances limitent cependant l'interprétation des résultats. Chez des mineurs ayant manipulé des bâtons explosifs contenant du Tg-DNT et exposés pour la plupart pendant au moins 20 ans, 6 cas de cancer urothélial et 14 cas de cancer rénal ont été répertoriés, ce qui correspond à des risques 4,5 et 14,3 fois supérieurs à ceux issus des registres de cancers (Brüning *et al.* 1999 ; 2001 ; 2002). L'exposition des travailleurs a été évaluée de manière rétrospective par interrogation des individus, qui ont ainsi

² *Unscheduled DNA synthesis* (synthèse non programmée de l'ADN)

été répartis en quatre catégories d'exposition (basse, moyenne, élevée et très élevée). Cela n'a cependant pas permis de mettre en évidence de relation dose-réponse. Tous les individus atteints d'un cancer urothélial étaient des acétyleurs lents. Une augmentation du risque de cancer du poumon a été mise en évidence dans une étude épidémiologique portant sur une cohorte de 16 441 mineurs (Seidler *et al.* 2014). Si un risque accru de cancers du rein et de la vessie a été observé chez les individus exposés le plus longtemps, celui-ci n'était pas significatif. Un biais de classement peut avoir entraîné une sous-estimation du risque réel.

Différentes études menées chez le rat et la souris ont permis d'observer l'apparition de tumeurs rénales, de dysplasie hépatocellulaire, de nodules néoplasiques hépatiques, de carcinomes hépatocellulaires, de tumeurs de la peau (mâles : tumeurs mésoenchymateuses et épithéliales sous-cutanées, fibrome, lipome, carcinome basocellulaire, sarcome, fibrosarcome, carcinosarcome et carcinome épidermoïde) et des glandes mammaires (femelles : adénome, papillome, fibroadénome, fibrome, adénocarcinome, carcinome) en lien avec l'exposition au 2,4-DNT (Ellis *et al.* 1979 ; 1985 ; Lee *et al.* 1985).

Une étude a mis en évidence une association entre l'exposition à long terme au 2,6-DNT et l'apparition de nodules néoplasiques hépatiques et de carcinomes hépatocellulaires (Leonard *et al.* 1987).

3.1.7. Populations sensibles

Les personnes présentant un déficit enzymatique érythrocytaire, en particulier un déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase, répandu au niveau du bassin méditerranéen, sont *a priori* plus sensibles aux effets hémolytiques du DNT.

3.2. Proposition de VTR long terme à seuil par voie orale

3.2.1. 2,4-DNT

■ Choix de l'effet critique

L'analyse des études chroniques ayant investigué la toxicité du 2,4-DNT a principalement mis en avant des effets hématotoxiques et hépatotoxiques. Ces effets surviennent chez les différentes espèces exposées (rats, souris et chiens) et sont révélateurs du caractère hémolytique et méthémoglobinisant du 2,4-DNT. La baisse du compte des hématies est un des premiers signes de l'hémolyse. Les effets hépatiques observés, et notamment l'hyperplasie biliaire, sont possiblement la conséquence de cet effet (Ellis *et al.* 1979).

Ainsi, le CES retient la baisse du compte des hématies comme effet critique.

■ Choix de l'hypothèse de construction

Pour la plupart des effets non cancérogènes, il est considéré, par défaut et en l'état actuel des connaissances, que la toxicité ne s'exprime qu'au-delà d'un seuil de dose. Ainsi, **le CES considère que l'effet critique résulte d'un mécanisme à seuil de dose.**

■ Analyse des VTR existantes

Deux VTR long terme par voie orale sont disponibles : une RfD³ de 0,002 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ établie par l'US EPA⁴ en 2008 et un MRL⁵ de 0,001 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ par l'ATSDR⁶ en 2016. La RfD proposée par l'US EPA est basée sur différents effets critiques (neurotoxicité, présence de corps de Heinz et hyperplasie des voies biliaires) et est dérivée à partir d'un NOAEL⁷, alors qu'il est préférable de s'appuyer sur une benchmark dose (BMD) lorsque cela est possible (Anses, à paraître). Bien que la valeur de l'ATSDR s'appuie sur l'effet critique retenu par le CES et se base sur une BMDL, aucun ajustement allométrique n'avait été réalisé et la modélisation de la BMD n'avait pas été faite en utilisant une moyenne des modèles, comme le recommande l'Anses à ce jour.

Ainsi, compte tenu de ces limites, le CES ne retient pas les VTR existantes pour le 2,4-DNT et propose de construire une VTR long terme par voie orale.

■ Construction de VTR

○ Choix de l'étude clé

L'étude de Ellis *et al.* de 1979, jugée de bonne qualité (Klimisch 1), a testé des doses relativement faibles sur les chiens Beagle comparativement à d'autres études menées chez le rat ou la souris (Hong *et al.* 1985 ; Lee *et al.* 1985). Le choix de retenir l'étude portant sur les femelles exposées pendant un an a été fait afin d'utiliser des données pour lesquelles l'effectif dans les différents groupes reste constant (n = 6). Les études chez le mâle ou conduites pendant deux ans ont comparé des effectifs plus faibles dans le groupe le plus exposé, notamment à cause de la mortalité plus importante au sein de ce groupe.

Le CES retient l'étude de Ellis *et al.* de 1979 comme étude clé.

○ Choix du point de départ

Les données de l'étude de Ellis *et al.* mettent en évidence une relation dose-réponse entre la baisse du compte des hématies et l'exposition à long terme au 2,4-DNT. Celle-ci a été modélisée à l'aide du logiciel Bayesian BMD (BBMD, version 0.0.0.9077) disponible sur le site de l'EFSA⁸ pour l'élaboration d'une benchmark dose (BMD) en utilisant la "moyenne des modèles" (model averaging) en inférence bayésienne pour estimer la BMDL.

S'agissant d'une variable continue (mesure d'une variable biologique), le choix du BMR (benchmark response⁹) repose sur une approche par paliers recommandée par l'EFSA (EFSA, 2022). En l'absence d'un BMR déjà établi, les experts ont fait le choix protecteur d'une valeur de 5 % par défaut, en considérant que, si cette diminution peut être jugée faible à l'échelle individuelle, elle peut être significative au niveau de la population.

Le Tableau 1 indique de façon synthétique la BMD obtenue pour l'effet critique et son intervalle de crédibilité à 90 % (BMDL-BMDU) en utilisant la méthode du *model averaging*.

³ Reference dose

⁴ US Environmental Protection Agency (agence américaine de protection de l'environnement)

⁵ Minimal Risk Level

⁶ Agency for Toxic Substances and Disease Registry

⁷ No Observed Adverse Effect Level

⁸ European food safety authority (autorité européenne de sécurité des aliments)

⁹ Modification maximale du niveau de réponse considérée comme étant physiologique (ou non néfaste) pour l'effet étudié.

Tableau 1 : BMD modélisée et son intervalle de crédibilité à 90 % à partir des données de Ellis et al. (1979), indiquant la baisse du compte des hématies chez des chiens Beagle femelles exposés au 2,4-DNT pendant 12 mois

BMDL	BMD	BMDU
0,129 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	0,243 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	0,926 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹

BMDL : limite inférieure de l'intervalle de crédibilité de la benchmark dose ; BMDU : limite supérieure de l'intervalle de crédibilité de la benchmark dose

Les critères de validation (BMD > au dixième de la plus faible dose d'exposition ; BMD/BMDL < 20 ; BMDU/BMDL < 50) sont tous respectés. Ainsi, le **CES retient comme point de départ une BMDL₅ de 0,129 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹**.

- Ajustement allométrique

Pour réduire l'incertitude sur la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé. Une dose équivalente humaine (HED = Human Equivalent Dose) est calculée à l'aide de l'équation suivante¹⁰ :

$$\text{Dose équivalente}_{\text{Homme}} = \text{Dose}_{\text{animal}} \times \left(\frac{\text{Poids}_{\text{animal}}}{\text{Poids}_{\text{Homme}}} \right)^{1/4}$$

Le poids moyen des chiens femelles est de 8,99 kg à la fin de l'étude (Ellis et al. 1979). Celui utilisé pour l'Homme pour le calcul est de 70 kg.

Soit **BMDL_{HED} = 0,077 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹**.

- Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir de la BMDL_{HED} est effectué à l'aide des facteurs d'incertitude (FI) suivants (Anses, à paraître) :

- variabilité inter-espèces (FI_A) : 2,5 pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles ;
- variabilité interindividuelle (FI_H) : 10, afin de prendre en compte la fraction de la population très sensible aux effets associés à l'hémolyse (déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase répandu au niveau du bassin méditerranéen) ;
- transposition subchronique à chronique (FI_S) : 1, l'étude clé étant une étude chronique sur un an¹¹ ;
- utilisation d'un point de départ (FI_L) : 1, le PoD étant une BMDL ;
- insuffisance des données (FI_D) : 1, plusieurs études chroniques portant sur les effets du 2,4-DNT étant disponibles, ainsi que des données de reprotoxicité et de toxicité sur le développement.

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

¹⁰ Cette équation est issue des recommandations de l'US EPA (US EPA, 2006).

¹¹ L'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) recommande de considérer les études d'au moins 1 an comme des études chroniques (OECD 2014).

- Proposition de VTR long terme à seuil par voie orale et niveau de confiance

Une VTR long terme à seuil a été calculée en faisant le rapport entre le PoD et le FI global.

$$\text{VTR} = 0,003 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$$

Le niveau de confiance global pour cette VTR est estimé à 3,2/5, soit un **niveau de confiance moyen**.

3.2.2. 2,6-DNT

■ Choix de l'effet critique

L'analyse des études ayant investigué la toxicité du 2,6-DNT a principalement mis en avant ses effets hématotoxiques et hépatotoxiques à moyen et long termes chez des chiens Beagle, des souris Swiss albinos et des rats CD (Lee *et al.* 1976).

Ainsi, le CES retient l'hématopoïèse extramédullaire¹² comme effet critique, ces effets apparaissant aux plus faibles doses.

■ Choix de l'hypothèse de construction

Pour la plupart des effets non cancérogènes, il est considéré par défaut et en l'état actuel des connaissances que la toxicité ne s'exprime qu'au-delà d'un seuil de dose. Ainsi, **le CES VSR considère que l'effet critique résulte d'un mécanisme à seuil de dose.**

■ Analyse des VTR existantes

Deux VTR long terme par voie orale sont disponibles : une RfD de 0,001 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ établie par l'US EPA en 2008 et une RfD provisoire de 0,0003 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ par l'US EPA en 2013. La première RfD est basée sur différents effets critiques (neurotoxicité, présence de corps de Heinz, hyperplasie des voies biliaires, lésions rénales et hépatiques) et un facteur d'incertitude global de 3000 a été ajouté au point de départ, un NOAEL de 4 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. La valeur de 2013 s'appuie sur l'effet critique retenu et se base sur un NOAEL_{HED} de 3 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ auquel un facteur d'incertitude global de 10 000 a été appliqué. Ces deux valeurs ont été dérivées en utilisant des facteurs d'incertitude très élevés. Un FI_D de 10 a été attribué, malgré l'existence de plusieurs études ayant investigué et permis d'observer différents effets toxicologiques. Un FI_S de 10 a été appliqué pour prendre en compte l'exposition subchronique de l'étude clé bien que la durée de l'étude (13 semaines) soit jugée satisfaisante au regard de l'effet critique retenu.

Ainsi, compte tenu de ces limites, le CES ne retient pas les VTR existantes et propose de construire une VTR long terme par voie orale pour le 2,6-DNT.

¹² L'hématopoïèse extramédullaire correspond à la prolifération de tissu hématopoïétique en dehors de la moelle osseuse. Ce processus est généralement une réaction à divers désordres hématologiques, notamment les anémies hémolytiques. Les sites de prolifération de l'hématopoïèse extramédullaire sont principalement les sites embryonnaires du tissu hématopoïétique, comme le foie et la rate.

■ Construction de VTR

○ Choix de l'étude clé

L'étude de Lee *et al.*, jugée de bonne qualité (Klimisch 1), est la seule étude de toxicité à doses répétées (13 semaines) disponible ayant investigué les différents effets toxiques du 2,6-DNT (Lee *et al.* 1976). L'étude de Leonard *et al.* a été menée chez des rats pendant un an, mais seuls les effets hépatiques ont été recherchés (Leonard *et al.* 1987). L'étude de Lee *et al.* met en évidence les effets hématotoxiques du 2,6-DNT dès la plus faible dose testée de 4 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ chez le chien beagle, alors qu'ils apparaissent à des doses plus élevées chez le rat SD (37 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) et la souris Swiss albinos (51 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹).

Le CES retient l'étude de Lee *et al.* de 1976 portant sur le chien Beagle comme étude clé. Le choix de cette espèce au sein de l'étude permet d'être protecteur, puisqu'il s'agit de celle pour laquelle les effets ont été observés à la dose la plus faible.

○ Choix du point de départ

Les données de l'étude de Lee *et al.* montrent qu'une légère hématopoïèse extramédullaire est observée dès la plus faible dose testée, qui permet de définir un LOAEL à 4 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, les données ne permettant pas de modéliser une BMD.

Le CES retient comme point de départ un LOAEL de 4 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.

○ Ajustement allométrique

Pour réduire l'incertitude sur la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé. Une dose équivalente humaine (HED) est calculée à l'aide de l'équation citée dans le chapitre 3.2.1 en considérant un poids moyen des chiens femelles de 10,85 kg (Lee *et al.* 1976) et de 70 kg pour l'Homme, soit un **LOAEL_{HED} = 2,5 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.**

○ Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir du LOAEL_{HED} a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude (FI) suivants (Anses, à paraître) :

- variabilité inter-espèces (FI_A) : 2,5 pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles ;
- variabilité interindividuelle (FI_H) : 10 par défaut, aucune donnée scientifique ne permettant de réduire la valeur par défaut ;
- transposition subchronique à chronique (FI_S) : $\sqrt{10}$ car l'étude clé est une étude subchronique (13 semaines) ;
- utilisation d'un point de départ (FI_L) : $\sqrt{10}$, le PoD étant un LOAEL mettant en évidence une légère hématopoïèse extramédullaire ;
- insuffisance des données (FI_D) : $\sqrt{10}$, car si des données existent concernant la toxicité subchronique et chronique, la génotoxicité, la reprotoxicité et la cancérogénicité, les études ne sont pas très nombreuses et proviennent majoritairement de la même équipe.

Un facteur d'incertitude global de 790 est donc utilisé pour la construction de la VTR.

- Proposition de VTR long terme à seuil par voie orale et niveau de confiance

Une VTR long terme à seuil a été calculée en faisant le rapport entre le PoD et le FI global.

$$\text{VTR} = 0,003 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$$

Le niveau de confiance global pour cette VTR est estimé à 2,6/5, soit un **niveau de confiance moyen-faible**.

3.2.3. Autres isomères : 2,3-DNT, 2,5-DNT, 3,4-DNT et 3,5-DNT

Il n'existe aucune étude concernant les effets liés aux expositions chroniques ou subchroniques au 2,3-DNT, 2,5-DNT, 2,4-DNT ou 3,5-DNT. À court terme, l'étude de Lent *et al.* a cependant également montré des effets hématotoxiques pour ces quatre isomères (Lent *et al.* 2012).

En l'absence de données long terme spécifiques de ces isomères, le CES retient la valeur des VTR construites pour le 2,4-DNT et le 2,6-DNT, c'est-à-dire 0,003 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ comme valeur toxicologique indicative (VTi). Une VTi est un repère toxicologique pouvant être utilisé pour l'évaluation d'un risque. Il s'agit d'une valeur indicative moins robuste que la VTR présentant ainsi un niveau de confiance faible (Anses, à paraître).

3.2.4. Dinitrotoluène, tous isomères confondus

En l'absence de données long terme spécifiques sur les différents mélanges possibles d'isomères du DNT, le CES retient la VTR construite pour le 2,4-DNT et le 2,6-DNT et appliquée comme VTi aux autres isomères, soit **0,003 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, comme VTi pour la somme des isomères du DNT.**

3.3. Proposition de VTR cancérigène par voie orale

3.3.1. 2,4-DNT

■ Choix de l'effet critique

Les différentes études épidémiologiques recensées ne permettent pas de caractériser les niveaux d'exposition des travailleurs, ni les isomères précis auxquels ils ont été exposés. Elles n'ont donc pas été retenues pour la construction de VTR.

Les études recensées chez l'animal ont mis en évidence différents effets cancérigènes associés au 2,4-DNT principalement au niveau hépatique et mammaire, mais aussi au niveau cutané (Lee *et al.* 1985). Pour les cancers des glandes mammaires et les cancers cutanés, l'association entre exposition au 2,4-DNT et augmentation de l'incidence disparaît lorsque seules les tumeurs malignes sont considérées et que les fibroadénomes mammaires sont exclus. En revanche, les données chez des rats femelles montrent un lien entre le niveau d'exposition et le niveau d'incidence des tumeurs hépatiques malignes.

Ainsi, le CES retient l'augmentation de l'incidence de nodules néoplasiques et de carcinomes hépatocellulaires comme effet critique.

■ Choix de l'hypothèse de construction

L'étude épidémiologique de Sabbioni *et al.* est en faveur du caractère génotoxique du 2,4-DNT (Sabbioni *et al.* 2006). Elle est appuyée par plusieurs tests menés chez l'animal (essai de synthèse non programmée de l'ADN, UDS, essai micronoyaux), en faveur de la génotoxicité de la substance, notamment au niveau des hépatocytes (Mirsalis *et al.* 1989 ; Suzuki *et al.* 2009 ; Takasawa *et al.* 2010).

En conclusion, le CES retient le fait que le 2,4-DNT entraîne des effets génotoxiques (mutations géniques, délétions, etc.) et que les effets suivent une relation dose-réponse sans seuil.

■ Analyse des VTR existantes

Deux VTR long terme sans seuil par voie orale sont disponibles : 0,31 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ défini par l'OEHHA en 2005 et 0,667 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ par l'US EPA en 2008. L'analyse de la première valeur, basée sur l'incidence cumulée de tumeurs du foie et de la glande mammaire, a identifié des incohérences dans sa construction (confusion sur l'étude clé et sur la valeur de l'excès de risque unitaire (ERU) repris de l'US EPA). La deuxième valeur a été dérivée à partir d'une BMDL modélisée par le logiciel de l'US EPA et repose sur l'augmentation de tumeurs de la glande mammaire comme effet critique, sans faire la distinction entre tumeurs malignes et bénignes, alors que, lorsque seules les tumeurs malignes sont prises en compte, l'effet dose-réponse disparaît.

Ainsi, compte tenu de ces limites, le CES ne retient pas les VTR existantes et propose de construire une VTR long terme sans seuil par voie orale.

■ Construction de VTR

○ Choix de l'étude clé

L'étude d'Ellis *et al.* montre notamment une augmentation significative des lésions néoplasiques hépatiques et des carcinomes hépatiques chez les rats CD femelles (Ellis *et al.* 1979). La mortalité intercurrente étant non négligeable, les incidences cumulées sont ajustées à l'aide de la méthode Poly-3 décrite par Bailer et Portier pour tenir compte de la mortalité des animaux, exempts de lésions spécifiques au site, survenant avant la fin de l'essai (Bailer et Portier 1988). Bien qu'étant jugée de bonne qualité (Klimisch 1), il est à noter toutefois que l'écart entre les deux doses testées les plus élevées (5,1 et 45 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) est important.

Le CES retient l'étude de Ellis *et al.* de 1979 comme étude clé.

○ Choix du point de départ

Les données de l'étude de Ellis *et al.* mettent en évidence une relation dose-réponse entre l'apparition de nodules néoplasiques et de carcinomes hépatocellulaires et l'exposition à long terme au 2,4-DNT. Celle-ci a été modélisée à l'aide du logiciel Bayesian benchmark dose modeling (BBMD, version 0.0.0.9077) disponible sur le site de l'EFSA pour l'élaboration d'une BMD. Dans le cas de données dichotomiques, un BMR à 10 % (extra-risk) est recommandé par défaut.

Le Tableau 2 indique de façon synthétique la BMD pour l'effet critique et son intervalle de crédibilité à 90 % (BMDL-BMDU), obtenus par *model averaging*.

Tableau 2 : BMD modélisée pour le 2,4-DNT et son intervalle de crédibilité à 90 % (BMDL-BMDU) à partir de l'étude de Ellis *et al.* (1979), en retenant les lésions néoplasiques et les carcinomes hépatiques comme effet critique et un BMR de 10 %

BMDL	BMD	BMDU
2,908 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹	10,342 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹	31,66 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹

Les critères de validation (BMD > au dixième de la plus faible dose d'exposition ; BMD/BMDL < 20 ; BMDU/BMDL < 50) sont tous respectés. Néanmoins, la BMDL se trouve légèrement inférieure à la dose de 5,1 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ correspondant au NOAEL. Le CES souligne les incertitudes liées à cette BMDL notamment dues à l'écart entre les deux dernières doses testées et au choix du BMR par défaut par rapport aux niveaux de réponse aux deux plus faibles doses (11 % à 0,7 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ et 14 % pour 5,1 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹). **Malgré ces réserves et en considérant que le *model averaging* en inférence bayésienne encadre bien l'incertitude liée aux modèles, le CES retient la BMDL de 2,908 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ comme point de départ, celle-ci étant protectrice au regard de la sévérité de l'effet.**

- Ajustement allométrique

Pour réduire l'incertitude sur la variabilité inter-espèce, un ajustement allométrique a été réalisé. Une dose équivalente humaine (HED) est calculée à l'aide de l'équation citée dans le chapitre 3.2.1 et en considérant la moyenne des poids moyens mensuels des rats femelles de 384 g (Ellis *et al.* 1979) et de 70 kg pour l'Homme, soit **BMDL_{HED} = 0,79 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹**.

- Proposition de VTR long terme sans seuil par voie orale et niveau de confiance

Un ERU a été calculé en faisant le rapport entre le BMR et la BMDL_{HED}.

$$\text{ERU} = 0,13 \text{ (mg.kg pc}^{-1}\text{.j}^{-1}\text{)}^{-1}$$

Cet ERU correspond à des doses de 770 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁴, 77 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁵ et 7,7 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁶.

Le niveau de confiance global pour cet ERU est estimé à 3,9/5, soit un **niveau de confiance moyen-fort**.

3.3.2. 2,6-DNT

- Choix de l'effet critique

Les différentes études épidémiologiques recensées ne permettent pas de caractériser les niveaux d'exposition des travailleurs ni les isomères précis auxquels ils ont été exposés. Elles n'ont donc pas été retenues pour la construction de VTR.

Une seule étude de cancérogénèse a été identifiée, mettant en avant l'augmentation de l'incidence des cholangiocarcinomes et des carcinomes hépatocellulaires chez des rats F344 en lien avec l'exposition au 2,6-DNT.

Ainsi, le CES retient l'augmentation de l'incidence des carcinomes hépatocellulaires comme effet critique.

■ Choix de l'hypothèse de construction

Les données concernant la génotoxicité du 2,6-DNT ne sont pas toutes concordantes. Cependant, la plupart des tests réalisés ont mis en avant des dommages à l'ADN, la formation d'adduits et l'apparition d'aberrations chromosomiques suite à l'exposition à cet isomère, notamment au niveau des hépatocytes (Lent *et al.* 2012 ; Rothfuss *et al.* 2010 ; Jones *et al.* 2005 ; Takasawa *et al.* 2010).

En conclusion, le CES retient le fait que le 2,6-DNT entraîne des effets génotoxiques et que les effets suivent une relation dose-réponse sans seuil.

■ Analyse des VTR existantes

Une VTR long terme sans seuil par voie orale a été dérivée par l'US EPA en 2013. Il s'agit d'un *oral slope factor* provisoire de 1,5 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹. Le point de départ est une BMDL modélisée à l'aide du logiciel de l'US EPA, utilisant un modèle multi-étapes (*multistage cancer model*), sans faire de moyenne des modèles (*model averaging*).

La valeur étant provisoire et la BMD utilisée n'ayant pas été modélisée en utilisant une moyenne des modèles, le CES ne retient pas la VTR existante et propose de construire une VTR long terme sans seuil par voie orale.

■ Construction de VTR

○ Choix de l'étude clé

Une seule étude de cancérogénèse a été identifiée lors de la revue de la littérature, celle de Leonard *et al.*, portant sur des rats F344 exposés pendant un an à des doses de 0, 7 ou 14 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ de 2,6-DNT (Leonard *et al.* 1987). L'étude obtient un score de Klimisch de 2 et est donc considérée comme fiable avec certaines restrictions.

Bien que de durée d'exposition un peu courte, le CES retient l'étude de Leonard *et al.* de 1987 comme étude clé.

○ Choix du point de départ

Les données de l'étude de Leonard *et al.* mettent en évidence une relation dose-réponse entre l'apparition de carcinomes hépatocellulaires et l'exposition à long terme au 2,6-DNT. Celle-ci a été modélisée à l'aide du logiciel Bayesian benchmark dose modeling (BBMD, version 0.0.0.9077) disponible sur le site de l'EFSA pour l'élaboration d'une BMD. Dans le cas de données dichotomiques, un BMR à 10 % (extra-risk) est recommandé.

Le Tableau 3 indique de façon synthétique la BMD et son intervalle de crédibilité à 90 % (BMDL-BMDU) obtenus pour l'effet critique par *model averaging*, en utilisant une méthode d'échantillonnage de Monte Carlo par chaîne de Markov (MCMC) avec *bridge sampling*.

Tableau 3 : BMD modélisée pour le 2,6-DNT et son intervalle de crédibilité à 90 % (BMDL-BMDU) à partir de l'étude de Leonard *et al.* (1987), en retenant l'augmentation de l'incidence des carcinomes hépatocellulaires comme effet critique et un BMR de 10 %

BMDL	BMD	BMDU
0,468 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	3,095 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	5,491 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹

Les critères de validation (BMD > au dixième de la plus faible dose d'exposition ; BMD/BMDL < 20 ; BMDU/BMDL < 50) sont tous respectés. Néanmoins, la BMD est inférieure à la première dose testée du fait de l'incidence forte observée aux deux doses testées, ce qui entraîne une certaine réserve sur cette valeur. **Malgré celle-ci et en considérant que le *model averaging* encadre bien la variabilité liée aux différents modèles, le CES retient la BMDL₁₀ de 0,468 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.**

- Ajustement allométrique

Pour réduire l'incertitude sur la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé. Une dose équivalente humaine (HED) est calculée à l'aide de l'équation citée dans le chapitre 3.2.1 en considérant la moyenne des poids moyens mensuels des rats mâles issue de l'étude clé, soit 376 g, et 70 kg pour l'Homme, soit **BMDL_{HED} = 0,13 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.**

- Proposition de VTR long terme sans seuil par voie orale et niveau de confiance

Un ERU a été calculé en faisant le rapport entre le BMR et la BMDL_{HED}.

$$\text{ERU} = 0,79 \text{ (mg.kg pc}^{-1}\text{.j}^{-1}\text{)}^{-1}$$

Cet ERU correspond à des doses de 130 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁴, 13 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁵ et 1,3 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁶.

Le niveau de confiance global pour cet ERU est estimé à 3,3/5, soit un **niveau de confiance moyen**.

3.3.3. Autres isomères : 2,3-DNT, 2,5-DNT, 3,4-DNT et 3,5-DNT

En l'absence d'étude de cancérogénèse associée au 2,3-DNT, 2,5-DNT, 3,4-DNT ou 3,5-DNT, le CES retient la valeur la plus protectrice parmi les ERU déterminés pour le 2,4-DNT et le 2,6-DNT, **c'est-à-dire 0,79 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ comme VTi**. Cela correspond à 130 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁴, 13 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁵ et 1,3 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁶.

3.3.4. Dinitrotoluène, tous isomères confondus

Dans le cas d'un mélange d'isomères du DNT, dont la proportion de chacun peut varier, il convient d'appliquer à chaque isomère l'ERU qui a été défini précédemment, soit 0,13 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ pour le 2,4-DNT et 0,79 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ pour les autres isomères. L'estimation du risque global peut alors se faire en faisant la somme des excès de risque individuel (ERI) calculés à partir des ERU.

3.4. Conclusion du CES

Plusieurs VTR et VTi long terme à seuil et sans seuil par voie orale ont été proposées par le CES (Tableau 4 et Tableau 5).

La VTR long terme à seuil par voie orale du 2,4-DNT est basée sur la diminution du compte des hématies. Un niveau de confiance moyen a été attribué à cette VTR. La VTR long terme à seuil par voie orale du 2,6-DNT est basée sur l'hématopoïèse extramédullaire. Un niveau de confiance moyen-faible a été attribué à cette VTR. La VTR long terme sans seuil par voie orale du 2,4-DNT est basée sur l'augmentation de l'incidence de carcinomes hépatocellulaires et de

nodules néoplasiques hépatiques. Un niveau de confiance moyen-fort a été attribué à cette VTR. La VTR long terme sans seuil par voie orale du 2,6-DNT est basée sur l'augmentation de l'incidence des carcinomes hépatocellulaires. Un niveau de confiance moyen a été attribué à cette VTR.

En l'absence de données de toxicité chronique et de cancérogenèse, des VTi à seuil et sans seuil ont été proposées pour les quatre autres isomères et pour la somme des isomères, en considérant les valeurs les plus protectrices des VTR élaborées pour les 2,4- et 2,6-DNT. Leur niveau de confiance est faible.

Les isomères du DNT n'étant pas retrouvés isolés dans les milieux, mais bien présents en mélange, une VTi pour la somme des isomères du DNT est recommandée pour les effets à seuil de dose. Elle correspond à la VTR déterminée individuellement pour chacun des différents isomères, soit $0,003 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$.

Pour les effets cancérogènes sans seuil de dose, dans le cas d'un mélange d'isomère du DNT, il convient d'appliquer à chaque isomère l'ERU qui a été défini précédemment, soit $0,13 (\text{mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1})^{-1}$ pour le 2,4-DNT et $0,79 (\text{mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1})^{-1}$ pour les autres isomères. L'estimation du risque global peut alors se faire en faisant la somme des excès de risque individuel (ERI) calculés à partir des ERU.

Certaines études épidémiologiques semblent indiquer que la voie d'absorption cutanée n'est pas négligeable et doit être prise en compte dans le cadre d'évaluations des risques sanitaires.

Tableau 4 : VTR et VTi long terme à seuil par voie orale pour les six isomères du DNT et le mélange d'isomères

		2,4-DNT	2,6-DNT	2,3-DNT	2,5-DNT	3,4-DNT	3,5-DNT	DNT					
VR	Organisme	Anses	Anses	Anses									
	Année	2024	2024	2024									
	Nom	VTR	VTR	VTi									
	Valeur	0,003 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹	0,003 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹	0,003 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹									
Population cible		Population générale	Population générale	Population générale									
Effet critique		Diminution du compte des hématies	Hématopoïèse extramédullaire	Valeur basée sur les VTR construites pour le 2,4-DNT et le 2,6-DNT									
Étude clé	Référence	Ellis <i>et al.</i> 1979	Lee <i>et al.</i> 1976										
	Espèce	Chien Beagle femelle	Chien Beagle										
	Exposition (durée, voie)	Orale (gélules), 12 mois	Orale (gélules), 13 semaines										
Point de départ (PoD)		BMDL ₅ = 0,129 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	LOAEL = 4 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹										
Ajustement temporel		/	/										
Ajustement allométrique		BMDL _{5 HED} = 0,078 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	LOAEL _{HED} = 2,51 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹										
Facteurs d'incertitude (FI)		25 FI _A : 2,5, FI _{H-TK} : 10	790 FI _A : 2,5, FI _{H-TK} : 10, FI _L : √10, FI _S : √10, FI _D : √10										
Niveau de confiance		Moyen	Moyen-faible						Faible				

Tableau 5 : VTR et VTi long terme sans seuil par voie orale pour les six isomères du DNT

		2,4-DNT	2,6-DNT	2,3-DNT	2,5-DNT	3,4-DNT	3,5-DNT
VR	Organisme	Anses	Anses	Anses			
	Année	2024	2024	2024			
	Nom	ERU	ERU	VTi			
	Valeur	0,13 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ 770 ng.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁴ 77 ng.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁵ 7,7 ng.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁶	0,79 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ 130 ng.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁴ 13 ng.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁵ 1,3 ng.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁶	0,79 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ 130 ng.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁴ 13 ng.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁵ 1,3 ng.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁶			
Population cible		Population générale	Population générale	Population générale			
Effet critique		Augmentation de l'incidence des carcinomes hépatocellulaires et des nodules néoplasiques	Augmentation de l'incidence des carcinomes hépatocellulaires	Valeur basée sur la VTR construite pour le 2,6-DNT			
Étude clé	Référence	Ellis <i>et al.</i> 1979	Leonard <i>et al.</i> 1987				
	Espèce	Rat SD femelle	Rat F344 mâle				
	Exposition (voie, durée)	Orale, supérieure à 1 an	Orale, 1 an				
Point de départ (PoD)		BMDL ₁₀ = 2,91 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	BMDL ₁₀ = 0,47 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹				
Ajustement temporel		/	/				
Ajustement allométrique		BMDL _{10 HED} = 0,79 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	BMDL _{10 HED} = 0,13 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹				
Construction		Extrapolation linéaire aux faibles doses					
Niveau de confiance		Moyen fort	Moyen	Faible			

* Pour les effets cancérigènes sans seuil de dose, dans le cas d'un mélange d'isomères du DNT, il convient d'appliquer à chaque isomère l'ERU qui a été défini. L'estimation du risque global peut alors se faire en faisant la somme des excès de risque individuel (ERI) calculés à partir des ERU.

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 et de VTi construites pour les isomères dinitrotoluène (DNT) et leur somme et les conclusions du CES « Valeurs sanitaires de référence ».

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 sanitaires dans les eaux destinées à la consommation humaine (VGS EDCH). Une VTi est un repère toxicologique pouvant également être utilisé pour l'évaluation d'un risque. Il s'agit en revanche d'une valeur indicative moins robuste que la VTR, présentant ainsi un niveau de confiance faible.

Pour les isomères du DNT, le profil toxicologique des substances a conduit les experts à proposer pour chacun des isomères une VTR à seuil et une VTR sans seuil de dose, pour couvrir les effets cancérigènes. Dans la mesure où les isomères sont rarement détectés de manière isolée, l'expertise a également proposé une approche pour prendre en compte la présence de l'ensemble des isomères. Si cette approche est associée à un niveau de confiance faible (puisqu'il s'agit d'une VTi), elle est néanmoins basée sur deux choix prudents : l'additivité des effets et la sélection de la VTR la plus basse qui ait été déterminée.

Ces valeurs toxicologiques de référence ont été élaborées notamment pour servir de support à la détermination de VGS EDCH par l'Anses. L'agence souligne également l'importance, dans une évaluation quantitative des risques associés à cette famille de substances, de s'interroger sur les niveaux d'exposition qui pourraient résulter d'autres voies, notamment la voie cutanée, dans la construction des scénarios.

Pr Benoît Vallet

MOTS-CLÉS

Valeur toxicologique de référence, VTR, dinitrotoluène, voie orale, long terme, chronique, seuil, cancer, sans seuil, valeur sanitaire

Toxicological reference value, TRV, health-based guidance value, HBGV, dinitrotoluene, oral route, long term, chronic, threshold, cancer, without threshold

CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2024). Élaboration de VTR long terme par voie orale pour le 2,3-dinitrotoluène (CAS n° 602-01-7), le 2,4-dinitrotoluène (CAS n° 121-14-2), le 2,5-dinitrotoluène (CAS n° 619-15-8), le 2,6-dinitrotoluène (CAS n° 606-20-2), le 3,4-dinitrotoluène (CAS n° 610-39-9) et le 3,5-dinitrotoluène (CAS n° 618-85-9). (saisine 2023-MPEX-0136). Maisons-Alfort : Anses, 22 p.

Valeurs toxicologiques de référence (VTR) externes

Élaboration de VTR long terme par voie orale pour le 2,3-dinitrotoluène (CAS n° 602-01-7), le 2,4-dinitrotoluène (CAS n° 121-14-2), le 2,5-dinitrotoluène (CAS n° 619-15-8), le 2,6-dinitrotoluène (CAS n° 606-20-2), le 3,4-dinitrotoluène (CAS n° 610-39-9) et le 3,5-dinitrotoluène (CAS n° 618-85-9)

Mission permanente « Valeurs toxicologiques de référence »

**Saisine n° « 2023-MPEX-0136 »
Saisine liée n° « 2022-SA-0217 »**

RAPPORT d'expertise collective

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

Juin 2024

Citation suggérée

Anses. (2024). Valeurs toxicologiques de référence (VTR) externe. Élaboration de VTR long terme par voie orale pour le 2,3-dinitrotoluène (CAS n° 602-01-7), le 2,4-dinitrotoluène (CAS n° 121-14-2), le 2,5-dinitrotoluène (CAS n° 619-15-8), le 2,6-dinitrotoluène (CAS n° 606-20-2), et le 3,4-dinitrotoluène (CAS n° 610-39-9) et le 3,5-dinitrotoluène (CAS n° 618-85-9). (saisine 2023-MPEX-0136). Maisons-Alfort : Anses, 103 p.

Mots clés

Valeur toxicologique de référence, VTR, dinitrotoluène, voie orale, long terme, chronique, seuil, cancer, sans seuil, valeur sanitaire

Key words

Toxicological reference value, TRV, health-based guidance value, HBGV, dinitrotoluene, oral route, long term, chronic, threshold, cancer, without threshold

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : Les experts 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.

RAPPORTEURS

Mme Aurore COLLIN – Pharmacien toxicologue, Maître de conférences à l'Université Clermont-Auvergne – Compétences : toxicologie (hépatotoxicité, neurotoxicité, génotoxicité), évaluation quantitative des risques sanitaires, valeurs toxicologiques de référence

M. Michel JOYEUX – Médecin toxicologue, retraité d'Eau de Paris et de l'École Pratique des Hautes Études (EPHE) – Compétences : toxicologie, évaluation quantitative des risques sanitaires et méthode d'analyse des dangers, chimie de l'eau, produits et procédés de traitement des EDCH, santé environnementale

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

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

- CES « Valeurs sanitaires de référence » – 04/03/2024, 16/05/2024, 27/06/2024

Président

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

Vice-président

M. Jérôme THIREAU – PhD, Chargé de recherche au CNRS – Compétences : physiologie animale, électrophysiologie, biologie cellulaire, cardiotoxicité – À compter d'avril 2023

Membres

M. Benoît ATGE – Médecin du travail, médecin toxicologue, AHI33. – Compétences : toxicologie, médecine, santé au Travail, biosurveillance, agents cytotoxiques, évaluation des expositions, contaminations surfaciques – À compter de novembre 2023

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

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

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. Jérôme LANGRAND – Praticien hospitalier, Chef de Service du centre antipoison de Paris, AP-HP Hôpital Fernand-Widal, Centre antipoison de Paris – Compétences : toxicologie, médecine, toxicologie professionnelle, pathologies environnementales et professionnelles, toxines – À compter de novembre 2023

Mme Gladys MIREY – Directrice de recherche en toxicologie, Responsable de l'équipe Génotoxicité & Signalisation, INRAE UMR TOXALIM – Compétences : toxicologie cellulaire, génotoxicité, mécanismes d'action, contaminants, modèles d'étude et méthodes alternatives, effets des mélanges – À compter de novembre 2023

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

Mme Magali OLIVA-LABADIE – Praticien hospitalier, Chef de Service, CHU de Bordeaux, Hôpital Pellegrin, Centre hospitalier universitaire, Centre Antipoison de Nouvelle Aquitaine – Compétences : toxicologie, médecine, toxicologie environnementale, toxines – À compter de novembre 2023

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

M. Henri SCHROEDER – Professeur 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 ès science en biochimie, toxicologie expérimentale, dermatotoxicologie

M. Antoine VILLA – Praticien hospitalier, médecin du travail, Hôpital de la Timone, Marseille – Compétences : pathologies professionnelles, toxicologie, médecine, expologie, biosurveillance, fibres d'amiante, agents cytotoxiques – À compter de novembre 2023

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

PARTICIPATION ANSES

Coordination et contribution scientifique

M. Arnaud FRACHON – Coordinateur d'expertises scientifiques – Anses

Contribution scientifique

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

Secrétariat administratif

Mme Agnès BRION – Anses

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Sigles et abréviations	9
Liste des tableaux	11
Liste des figures	13
1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise	14
1.1 Contexte	14
1.2 Objet de la saisine	14
1.2.1 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation	14
1.3 Prévention des risques de conflits d'intérêts	15
2 Méthode	16
3 Informations générales	20
3.1 Identification des substances	20
3.2 Propriétés physico-chimiques	21
3.3 Classification	22
3.4 Sources et utilisations	25
4 Profil toxicologique	26
4.1 Toxicocinétique	26
4.1.1 Absorption	26
4.1.2 Distribution	26
4.1.3 Métabolisme	26
4.1.4 Excrétion	28
4.2 Toxicité aiguë	29
4.2.1 Administration unique	29
4.2.2 Administration répétée	30
4.3 Toxicité subchronique et chronique	33
4.3.1 Données chez l'Homme	33
4.3.2 Données chez l'animal	34
4.4 Reprotoxicité et toxicité sur le développement	37
4.4.1 Reprotoxicité	37
4.4.2 Toxicité sur le développement	39
4.5 Génotoxicité	40
4.5.1 Données chez l'Homme	40
4.5.2 Données chez l'animal	40
4.5.3 Données <i>in vitro</i>	41
4.6 Cancérogénicité	42

4.6.1	Données chez l'Homme	42
4.6.2	Données chez l'animal	43
4.7	Populations sensibles	46
5	Recueil des valeurs toxicologiques de référence	47
5.1	VTR court terme par voie orale	47
5.2	VTR moyen terme par voie orale.....	50
5.2.1	2,4-DNT	50
5.2.2	2,6-DNT	50
5.3	VTR long terme par voie orale	53
5.3.1	VTR à seuil	53
5.3.2	VTR sans seuil pour les effets cancérogènes.....	55
6	Proposition de VTR long terme à seuil par voie orale	59
6.1	2,4-DNT	59
6.1.1	Choix de l'effet critique.....	59
6.1.2	Choix de l'hypothèse de construction	59
6.1.3	Analyse des VTR existantes	60
6.1.4	Construction de VTR.....	60
6.2	2,6-DNT	63
6.2.1	Choix de l'effet critique.....	63
6.2.2	Choix de l'hypothèse de construction	63
6.2.3	Analyse des VTR existantes	63
6.2.4	Construction de VTR.....	64
6.3	Autres isomères : 2,3-DNT, 2,5-DNT, 3,4-DNT et 3,5-DNT	66
6.4	Dinitrotoluène, tous isomères confondus	66
7	Proposition de VTR long terme sans seuil par voie orale	66
7.1	2,4-DNT	66
7.1.1	Choix de l'effet critique.....	66
7.1.2	Choix de l'hypothèse de construction	67
7.1.3	Analyse des VTR existantes	67
7.1.4	Construction de VTR.....	67
7.2	2,6-DNT	70
7.2.1	Choix de l'effet critique.....	70
7.2.2	Choix de l'hypothèse de construction	70
7.2.3	Analyse des VTR existantes	70
7.2.4	Construction de VTR.....	71
7.3	Autres isomères : 2,3-DNT, 2,5-DNT, 3,4-DNT et 3,5-DNT	73

7.4	Dinitrotoluène, tous isomères confondus	73
8	Conclusions du CES	73
9	Bibliographie	78
9.1	Publications	78
9.2	Normes	83
Annexe 1 : Lettre de saisine		85
Annexe 2 : Recherche bibliographique		87
Annexe 3 : Résumé des tests de génotoxicité <i>in vitro</i> des isomères du DNT (d'après ATSDR 2016).....		91
Annexe 4 : Grille ToxRTool d'évaluation de l'étude de Ellis <i>et al.</i> 1979 chez le chien Beagle.....		95
Annexe 5 : Grille d'évaluation du niveau de confiance de la VTR orale long terme à seuil pour le 2,4-DNT à partir de l'étude de Ellis <i>et al.</i> (1979) chez le chien Beagle		96
Annexe 6 : Grille ToxRTool d'évaluation de l'étude de Lee <i>et al.</i> 1976		97
Annexe 7 : Grille d'évaluation du niveau de confiance de la VTR orale long terme à seuil pour le 2,6-DNT à partir de l'étude de Lee <i>et al.</i> (1976).....		98
Annexe 8 : Grille ToxRTool d'évaluation de l'étude de Ellis <i>et al.</i> 1979 chez le rat		99
Annexe 9 : Grille d'évaluation du niveau de confiance de la VTR orale long terme sans seuil pour le 2,4-DNT à partir de l'étude de Ellis <i>et al.</i> (1979) chez le rat.....		100
Annexe 10 : Grille ToxRTool d'évaluation de l'étude de Leonard <i>et al.</i> (1987).....		101
Annexe 11 : Grille d'évaluation du niveau de confiance de la VTR orale long terme sans seuil pour le 2,6-DNT à partir de l'étude de Leonard <i>et al.</i> (1987).....		102

Sigles et abréviations

ADN	: Acide désoxyribonucléique
Anses	: Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation environnement travail
ALAT	: Alanine aminotransférase
ARS	: Agence régionale de santé
ASAT	: Aspartate aminotransférase
ATSDR	: Agency for Toxic Substances and Disease Registry
BMD	: Benchmark dose
BMDL	: Limite inférieure de l'intervalle de confiance de la benchmark dose
BMDU	: Limite supérieure de l'intervalle de confiance de la benchmark dose
BMR	: Benchmark response
CES	: Comité d'experts spécialisé
CIIT	: Chemical Industry Institute of Toxicology
CIRC	: Centre international de recherche sur le cancer (en anglais International Agency for Research on Cancer, IARC)
CLP	: Classification, Labelling, Packaging (règlement relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges)
DEDuCT	: Database on Endocrine Disrupting Chemicals and their Toxicity Profiles
DGPR	: Direction générale de la prévention des risques
DGS	: Direction générale de la santé
DL ₅₀	: Dose létale médiane
DNT	: Dinitrotoluène
ECHA	: European Chemicals Agency (Agence européenne des produits chimiques)
EDCH	: Eaux destinées à la consommation humaine
EFSA	: European Food Safety Authority (Autorité européenne de sécurité des aliments)
EQRS	: Évaluation quantitative des risques sanitaires
ERI	: Excès de risque individuel
ERU	: Excès de risque unitaire
FI	: Facteur d'incertitude
FI _A	: Facteur d'incertitude inter-espèces
FI _D	: Facteur d'incertitude au manque de données
FI _H	: Facteur d'incertitude interindividuel
FI _{H-TD}	: Composante toxicodynamique du facteur d'incertitude interindividuel
FI _{H-TK}	: Composante toxicocinétique du facteur d'incertitude interindividuel
FI _L	: Facteur d'incertitude lié à l'utilisation d'un LOAEL ou d'une BMD
FI _S	: Facteur d'incertitude lié à la transposition subchronique à chronique
FSH	: Hormone folliculo-stimulante
GSTT1	: Glutathion S-transférase thêta 1
GT	: Groupe de travail
HED	: Human Equivalent Dose (dose équivalente humaine)
IC _{95%}	: Intervalle de confiance à 95 %
Ineris	: Institut national de l'environnement industriel et des risques
LHN	: Laboratoire d'hydrologie de Nancy
LOAEL	: Lowest Observed Adverse Effect Level (dose minimale entraînant un effet néfaste observé)

MAK	:	Maximale Arbeitsplatz-Konzentration (concentration maximale sur le lieu de travail)
MRL	:	Minimal Risk Level
NOAEL	:	No Observed Adverse Effect Level (dose maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé)
OCDE	:	Organisation de coopération et de développement économiques
OEHHA	:	Office of Environmental Health Hazard Assessment (Californie, États-Unis)
OMS	:	Organisation mondiale de la santé
PE	:	Perturbateur endocrinien
PoD	:	Point of Departure (point de départ)
PPRTV	:	Provisional Peer-Reviewed Toxicity Value (valeur toxicologique provisoire évaluée par les pairs)
REACH	:	Registration, Evaluation, Authorization and restriction of Chemicals (enregistrement, évaluation, autorisation et restriction des substances chimiques)
RfD	:	Reference Dose
RIVM	:	Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (Institut national de la santé publique et de l'environnement, Pays-Bas)
RSI	:	Ratio standardisé d'incidence
SD	:	Sprague Dawley
SVHC	:	Substance of Very High Concern (substance extrêmement préoccupante)
TDI	:	Toluene diisocyanate (diisocyanate de toluène)
UDP	:	Uridine diphosphate
US EPA	:	United States Environmental Protection Agency (États-Unis)
VGAI	:	Valeur guide de qualité d'air intérieur
VGS EDCH	:	Valeur guide sanitaire dans les EDCH
VTR	:	Valeur toxicologique de référence

Liste des tableaux

Tableau 1 : Identification des agents chimiques	20
Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques des isomères du dinitrotoluène (ATSDR 2016)...	21
Tableau 3 : Classification CLP des 2,3-DNT et 2,4-DNT	22
Tableau 4 : Classification CLP des 2,5-DNT et 3,4-DNT	23
Tableau 5 : Classification CLP des 2,6-DNT et 3,5-DNT	24
Tableau 6 : Utilisation du DNT (d'après l'Ineris).....	25
Tableau 7 : DL ₅₀ orale (en mg.kg pc ⁻¹) pour les différents isomères du DNT chez le rat et la souris (Rickert <i>et al.</i> 1984 ; Vernot <i>et al.</i> 1977).....	29
Tableau 8 : NOAEL et LOAEL (mg.kg pc ⁻¹) identifiés à partir de l'étude Deng <i>et al.</i> 2011 (ATSDR 2016).....	30
Tableau 9 : Doses testées pour les différents isomères en mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ (Lent <i>et al.</i> 2012a)	30
Tableau 10 : Résumé de certains effets liés à l'exposition pendant 14 jours à différents isomères du DNT chez des rats Sprague Dawley et des LOAEL (et NOAEL) associés (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹) (Lent <i>et al.</i> 2012a).....	33
Tableau 11 : Résumé des effets hématologiques du 2,4-DNT observés chez l'animal. Les doses indiquées correspondent au LOAEL et au NOAEL lorsqu'il a pu être identifié (ATSDR 2016).....	34
Tableau 12 : Résumé des effets hépatiques du 2,4-DNT observés chez l'animal. Les doses indiquées correspondent au LOAEL et au NOAEL lorsqu'il a pu être identifié (ATSDR 2016)	35
Tableau 13 : Résumé des effets neurologiques du 2,4-DNT observés chez l'animal. Les doses indiquées correspondent au LOAEL et au NOAEL lorsqu'il a pu être identifié (ATSDR 2016)	35
Tableau 14 : Résumé des effets hépatiques du 2,6-DNT observés chez l'animal. Les doses indiquées correspondent au LOAEL et au NOAEL lorsqu'il a pu être identifié (ATSDR 2016)	36
Tableau 15 : Résumé des effets reprotoxiques du 2,4-DNT chez l'animal et des doses correspondant au LOAEL et au NOAEL lorsqu'il a pu être identifié (ATSDR 2016)	38
Tableau 16 : Résumé des effets reprotoxiques du 2,6-DNT observés chez l'animal et des doses correspondant au LOAEL et au NOAEL lorsqu'il a pu être identifié (ATSDR 2016)....	39
Tableau 17 : Résumé des études sur la génotoxicité <i>in vivo</i> des différents isomères du DNT (ATSDR 2016).....	40
Tableau 18 : Mutagénicité des isomères du DNT sur des cellules ovariennes de hamster chinois (Abernethy et Couch 1982).....	42
Tableau 19 : Incidence des lésions observées chez les souris exposées au 2,4-DNT par voie orale pendant 24 mois en fonction de la dose (Ellis <i>et al.</i> 1979).....	45
Tableau 20 : Incidence des lésions observées chez les souris exposées pendant 12 ou 24 mois au 2,4-DNT par voie orale en fonction de la dose (Hong <i>et al.</i> 1985).....	45
Tableau 21 : Incidence des lésions hépatiques observées chez les rats exposés au 2,4-DNT par voie orale pendant 12 mois en fonction de la dose (Lee <i>et al.</i> 1985).....	45

Tableau 22 : Incidence des lésions observées chez les rats exposés au 2,4-DNT par voie orale pendant plus de 12 mois (Lee <i>et al.</i> 1985)	46
Tableau 23 : VTR court terme par voie orale pour les isomères du dinitrotoluène	49
Tableau 24 : VTR moyen terme à seuil par voie orale pour le 2,4-DNT et le 2,6-DNT	52
Tableau 25 : VTR long terme à seuil par voie orale pour le 2,4-DNT	53
Tableau 26 : VTR long terme à seuil par voie orale pour le 2,6-DNT	54
Tableau 27 : Données d'incidence des tumeurs mammaires chez les rats femelles issues de l'étude d'Ellis <i>et al.</i> de 1979.....	55
Tableau 28 : Dérivation à partir de l'étude de Lee <i>et al.</i> de 1978 pour les rats femelles	56
Tableau 29 : VTR long terme sans seuil par voie orale pour le 2,4-DNT	56
Tableau 30 : VTR long terme sans seuil par voie orale pour le 2,6-DNT	57
Tableau 31 : Données d'incidence de carcinomes hépatocellulaires chez les rats mâles exposés par voie orale pendant 1 an (Leonard <i>et al.</i> , 1987).....	57
Tableau 32 : Données d'incidence chez les rats mâles à la 104 ^e semaine issues de l'étude de CIIT de 1982, BMD/BMDL et <i>cancer slope factor</i> associés chez l'animal (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹)	58
Tableau 33 : Compte des hématies mesuré dans des groupes de chiens Beagle femelles exposés à différentes doses de 2,4-DNT pendant 12 mois (d'après Ellis <i>et al.</i> 1979).....	60
Tableau 34 : BMD modélisée et son intervalle de crédibilité à 90 % à partir des données de Ellis <i>et al.</i> (1979), indiquant la baisse du compte des hématies chez des chiens Beagle femelles exposés au 2,4-DNT pendant 12 mois	61
Tableau 35 : Incidence des lésions néoplasiques et des carcinomes hépatiques observés après exposition au 2,4-DNT chez des rats SD femelles (Ellis <i>et al.</i> 1979).....	68
Tableau 36 : BMD modélisée et son intervalle de crédibilité à 90 % (BDML-BMDU) à partir de l'étude de Ellis <i>et al.</i> (1979), en retenant les lésions néoplasiques et les carcinomes hépatiques chez les femelles comme effet critique et un BMR de 10 %.....	68
Tableau 37 : Incidence des carcinomes hépatiques observée après exposition au 2,6-DNT chez des rats SD mâles (Leonard <i>et al.</i> 1987)	71
Tableau 38 : BMD modélisée et son intervalle de crédibilité à 90 % (BDML-BMDU) à partir de l'étude de Leonard <i>et al.</i> de 1987, en retenant les carcinomes hépatiques chez les rats mâles comme effet critique et un BMR de 10 %	71
Tableau 39 : VTR et VTi long terme à seuil par voie orale pour les six isomères du DNT et le mélange d'isomères	75
Tableau 40 : VTR et VTi long terme sans seuil par voie orale pour les six isomères du DNT*	76
Tableau 41 : Requêtes bibliographiques.....	87

Liste des figures

Figure 1 : Différentes étapes de proposition d'une VTR	18
Figure 2 : Niveau de confiance d'une VTR (Anses, 2023)	18
Figure 3 : Logigramme explicitant l'attribution des niveaux de confiance (Anses, à paraître)	19
Figure 4 : Principale voie métabolique du 2,4-DNT chez l'Homme (Harth <i>et al.</i> , 2005).....	27
Figure 5 : Voies métaboliques proposées pour le 2,6-DNT (ATSDR 2016).....	28
Figure 6 : Modélisation de la diminution du compte des hématies chez le chien Beagle en fonction de l'exposition à long terme au 2,4-DNT, d'après les données de Ellis <i>et al.</i> de 1979	61
Figure 7 : Niveau de confiance de la VTR long terme à seuil du 2,4-DNT (Anses, à paraître)	63
Figure 8 : Niveau de confiance de la VTR long terme à seuil du 2,6-DNT selon la méthodologie de l'Anses (Anses, à paraître).....	66
Figure 9 : Modélisation de l'augmentation de l'incidence de nodules néoplasiques et de carcinomes hépatocellulaires chez les femelles et fonction des niveaux d'exposition au 2,4-DNT	68
Figure 10 : Niveau de confiance de l'ERU du 2,4-DNT selon la méthodologie Anses (Anses, à paraître).....	70
Figure 11 : Modélisation de l'augmentation de l'incidence de carcinomes hépatocellulaires chez les rats mâles suite à l'exposition au 2,6-DNT	71
Figure 12 : Niveau de confiance de l'ERU du 2,6-DNT (Anses, à paraître)	73
Figure 13 : Diagramme de flux	90

1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise

1.1 Contexte

La Direction générale de la santé (DGS) a confié au laboratoire d'hydrologie de Nancy (LHN) de l'Anses la réalisation d'une campagne nationale exploratoire entre 2020 et 2022, sur les eaux brutes et les eaux traitées, afin de caractériser la présence de pesticides et métabolites de pesticides, de résidus d'explosifs et du 1,4-dioxane au niveau national. Les premiers résultats ont montré la présence, à des concentrations supérieures aux limites de quantification, de plusieurs isomères du dinitrotoluène (DNT), en particulier les 2,3-, 2,6- et 3,4-DNT. Le 2,4-DNT a été retrouvé à des doses moins élevées, mais plus fréquemment.

La recherche de ces résidus d'explosifs dans les eaux destinées à la consommation humaine (EDCH) s'est avérée nécessaire, suite aux différentes campagnes d'analyses réalisées autour de la contamination par des constituants de munitions de certains sites historiques. À ce jour, ces paramètres ne font pas partie de ceux couverts par la réglementation nationale pour les EDCH et ne sont généralement pas recherchés dans le cadre du contrôle sanitaire des eaux mis en œuvre par les agences régionales de santé (ARS).

1.2 Objet de la saisine

Dans ce contexte, la DGS a saisi l'Anses le 17 novembre 2022 (Annexe 1), afin de :

- réaliser une évaluation des risques sanitaires liés à la présence de ces dérivés du DNT dans les EDCH ;
- déterminer une valeur guide sanitaire dans les EDCH (VGS EDCH).

Ainsi, dans le cadre du protocole d'accord entre l'Anses, la Direction générale de la santé (DGS) et la Direction générale de la prévention des risques (DGPR) pour la mise en œuvre du programme de travail d'expertise scientifique en matière de valeurs toxicologiques de référence (VTR), établi en décembre 2022, il a été convenu de réaliser des travaux d'expertise nécessaires à l'élaboration de VTR long terme par voie orale pour ces substances.

Le présent rapport vise à proposer de telles VTR pour les différents isomères du DNT, à savoir les 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- et 3,5-DNT. Les différents isomères n'étant généralement pas retrouvés seuls dans les EDCH, une VTR sera également proposée pour le DNT, tous isomères confondus.

1.2.1 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié au comité d'experts spécialisé (CES) « Valeurs sanitaires de référence » l'instruction de cette saisine.

Les travaux d'expertise ont été soumis régulièrement au CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Le rapport tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES.

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) »

1.3 Prévention des risques de conflits d'intérêts

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 Méthode

L'Anses définit une VTR comme une appellation générique regroupant tous les types d'indices toxicologiques permettant d'établir une relation entre une quantité ou concentration d'un agent chimique et un effet néfaste (effet à seuil) ou entre une quantité ou concentration d'un agent chimique et une probabilité d'effet (effet sans seuil), à l'échelle d'une population. Par définition, les VTR sont construites pour protéger la population dans son ensemble, y compris les populations sensibles (ex. enfants, personnes âgées, etc.), des effets néfastes induits par l'agent chimique.

Les VTR sont spécifiques d'un agent chimique, d'une voie (orale, respiratoire, cutanée), d'une durée d'exposition (court, moyen ou long terme). Il existe donc des VTR :

- « court terme » pour les expositions d'une journée à deux semaines ;
- « moyen terme » pour les expositions supérieures à deux semaines mais inférieures à un an ;
- « long terme » pour les expositions de plus d'un an.

Les VTR peuvent être utilisées dans le cadre des évaluations quantitatives de risques sanitaires (EQRS) réalisées à l'échelle populationnelle uniquement 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 (ex. : VGAI, VGS EDCH) ou de teneurs maximales réglementaires dans les aliments. Enfin, elles peuvent également servir à hiérarchiser des agents chimiques en fonction du danger qu'ils représentent, ces valeurs permettant souvent d'évaluer leur toxicité (Anses, à paraître).

En fonction du corpus des données et des connaissances disponibles sur le ou les mécanismes d'action biologique de l'agent chimique d'intérêt, deux grands types de VTR long terme peuvent être élaborés :

- les VTR « à seuil de dose » correspondant à une estimation de la quantité ou de la concentration maximale de l'agent chimique à laquelle un individu ou une population peut théoriquement être exposé, sans risque d'effet néfaste sur la santé au cours d'une durée déterminée et sur la base de toutes les informations disponibles au moment de son élaboration. Elles sont construites dans le cas d'agents chimiques provoquant, au-delà d'une certaine dose, des effets dont la sévérité augmente avec la dose absorbée ;
- les VTR « sans seuil de dose », construites dans le cas d'agents chimiques pour lesquels l'effet néfaste peut apparaître quelle que soit la dose reçue, la probabilité de survenue d'effets néfastes augmentant avec la dose. Il s'agit, pour l'essentiel, des effets cancérogènes résultant d'un mécanisme génotoxique direct. Les VR « sans seuil de dose » correspondent soit à la probabilité supplémentaire par unité de dose d'exposition à l'agent chimique (excès de risque unitaire : ERU), de développer l'effet critique pour un individu ou une population exposé(e) durant sa vie entière, soit à des concentrations/doses correspondant à un niveau de risque déterminé (habituellement 10^{-4} , 10^{-5} et 10^{-6}).

Afin de construire des VTR, l'Anses s'appuie sur son guide d'élaboration des VTR (Anses, à paraître).

Avant l'élaboration des VTR, un recueil de données utiles à la caractérisation de l'agent chimique a été réalisé (identification, propriétés physico-chimiques, classifications), ainsi que des informations générales sur les usages, les sources et les expositions.

Un profil toxicologique a été réalisé afin de définir les effets, observés chez l'Homme et l'animal, liés à différents types d'exposition aux différents isomères du DNT, caractérisés par leur durée et voie d'exposition (orale, respiratoire, cutanée), ainsi que les populations sensibles. Les éventuels effets bénéfiques des agents chimiques ne sont pas décrits dans les profils toxicologiques.

La synthèse des données de toxicité par voie orale pour les isomères du dinitrotoluène a été rédigée sur la base des rapports de synthèse réalisés par des organismes reconnus au niveau international (ATSDR 2016 ; US EPA 2008 ; IARC 1996), complétés par une revue bibliographique. Celle-ci a été réalisée à partir des bases de données PubMed et Scopus jusqu'à avril 2024 (sans limites de date). Cette recherche bibliographique a permis d'identifier 250 références, 60 études ont été retenues. Le détail de la recherche bibliographique est présenté en Annexe 2.

Un recensement des VTR existantes pour la voie orale publiées jusqu'en 2024 par les principaux organismes de sécurité sanitaire reconnus au niveau supranational (OMS), européen (EFSA), national ou régional (US EPA, ATSDR, OEHHA, Santé Canada, RIVM, etc.) a été réalisé. Seules les VTR publiées par une agence sanitaire et accompagnées d'un argumentaire scientifique robuste rédigé en anglais ou en français ont été incluses dans ce recensement. Les positions provisoires ou soumises pour consultation publique (draft) ont été également décrites. Lorsque plusieurs VTR ont été produites au fil du temps par un organisme, seule la VTR la plus récente publiée a été prise en compte.

L'élaboration des VTR suit une approche structurée et exigeante qui implique des évaluations collectives par des groupes de spécialistes. 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 monotone entre la concentration ou la dose d'exposition 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 et une VTR à seuil de dose est alors proposée (Anses, à paraître). Pour les effets cancérogènes, il est possible d'établir des VTR à seuil ou sans seuil selon le mode d'action de l'agent chimique étudié. Un schéma décisionnel fondé sur les résultats des tests de mutagénicité et génotoxicité *in vitro* et *in vivo* permet d'aboutir à la sélection de l'hypothèse de construction des VTR fondées sur des effets cancérogènes (Anses, à paraître).

En pratique, la construction d'une VTR externe¹ comprend les étapes suivantes (Figure 1) :

- identifier le ou les organes cibles et l'effet critique sur la base du profil toxicologique ;
- identifier l'hypothèse de construction, à seuil ou sans seuil de dose, en fonction du mode d'action de l'agent chimique ;
- réaliser une analyse critique de chacune des VTR recensées afin d'identifier si l'une d'elles peut être retenue (choix). Cette analyse est réalisée en prenant en compte différents critères d'analyse décrits dans le guide méthodologique de l'Anses (Anses, à paraître), tels que la transparence et l'argumentation, les différents choix de construction (choix de l'effet critique, de l'étude clé et du PoD ; utilisation d'ajustements temporel et allométrique ; choix des facteurs d'incertitude pour les effets à seuil de dose ou la méthode d'extrapolation aux faibles doses pour les VTR sans seuil de dose)

¹ Les VTR externes correspondent à des valeurs généralement exprimées en concentration dans un milieu d'exposition ou en quantité ajustée sur le poids corporel, pour une voie d'exposition donnée, tandis que les VTR internes sont exprimées en concentration dans une matrice biologique de l'organisme humain (Anses, à paraître).

et l'année d'élaboration ou de révision de la VTR. Quand aucune VTR n'est jugée pertinente, la construction d'une nouvelle VTR est entreprise ;

- choisir une (ou plusieurs) étude(s) clé de bonne qualité scientifique la (ou les) plus pertinente(s) parmi les études épidémiologiques ou toxicologiques permettant d'établir une relation dose-réponse ;
- définir un point de départ (PoD) chez l'Homme ou l'animal à partir de cette(ces) étude(s) ;
- réaliser des ajustements temporels et allométriques si nécessaire ;
- pour une VTR à seuil, appliquer des facteurs d'incertitude (FI) à ce PoD, de manière à dériver une VTR applicable à l'ensemble de la population ;
- pour une VTR sans seuil, déterminer une pente et/ou des concentrations/doses associées à plusieurs niveaux de risque ;
- fixer un niveau de confiance.

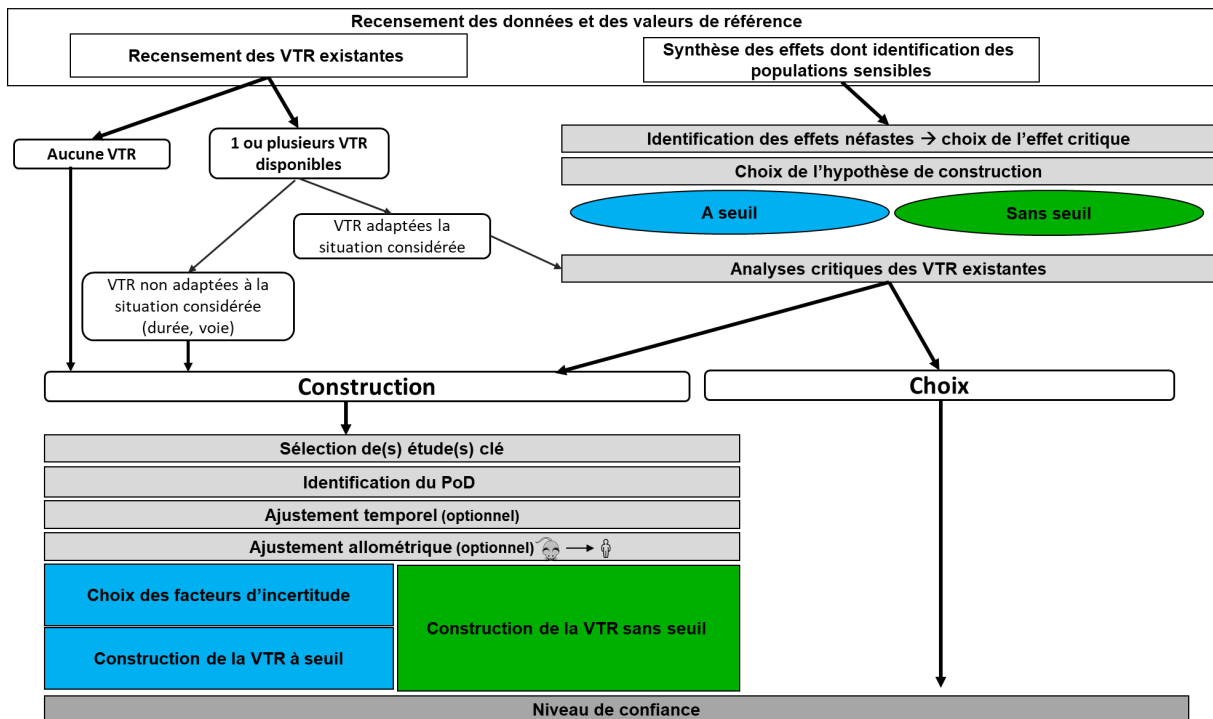


Figure 1 : Différentes étapes de proposition d'une VTR

Un niveau de confiance global est attribué à chaque VTR externe, qu'elle soit élaborée ou choisie. Cinq niveaux de confiance correspondant à cinq couleurs sont possibles : fort, moyen-fort, moyen, moyen-faible ou faible (Figure 2).



Figure 2 : Niveau de confiance d'une VTR (Anses, à paraître)

Le niveau de confiance global des VTR externes est estimé grâce à un outil établi par l'Anses en se fondant sur différents critères (Figure 3), tels que mentionnés dans le guide méthodologique de l'Anses (Anses, à paraître). Cet outil doit être utilisé en aveugle par trois évaluateurs au minimum ayant participé à la construction ou à la sélection de la VTR ou ayant des connaissances sur le sujet. Le niveau de confiance globale est fixé collégialement sur la base des niveaux de confiance attribués par ces 3 évaluateurs et des arguments associés.

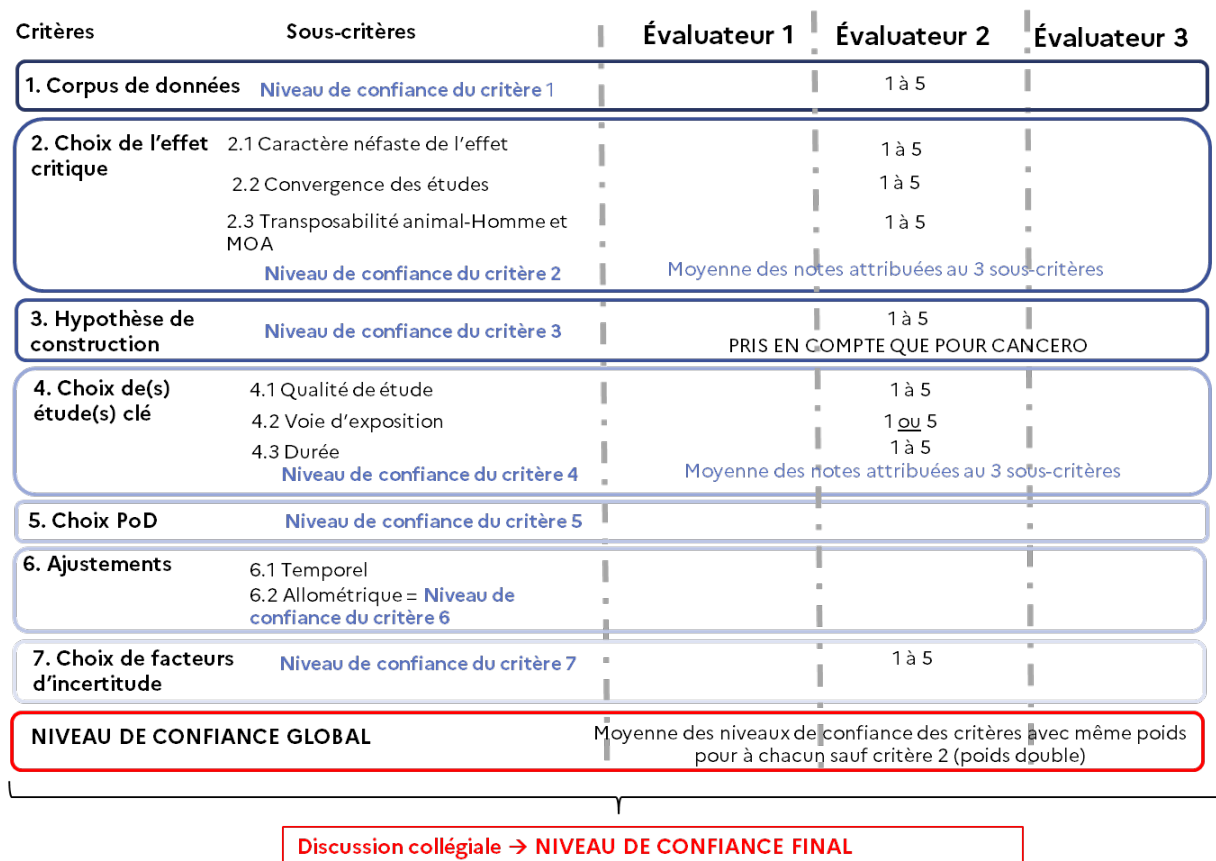


Figure 3 : Logigramme explicitant l'attribution des niveaux de confiance (Anses, à paraître)

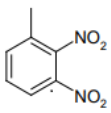
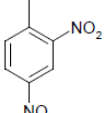
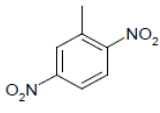
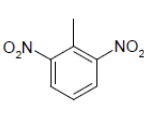
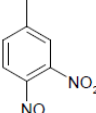
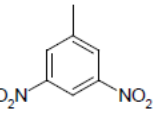
3 Informations générales

3.1 Identification des substances

Le DNT est un composé chimique aromatique dérivé du toluène, obtenu par l'addition de deux groupes nitro ($-\text{NO}_2$) sur son noyau benzénique. Il possède 6 isomères : 2,3-dinitrotoluène (CAS n° 602-01-7), 2,4-dinitrotoluène (CAS n° 121-14-2), 2,5-dinitrotoluène (CAS n° 619-15-8), 2,6-dinitrotoluène (CAS n° 606-20-2), 3,4-dinitrotoluène (CAS n° 610-39-9) et 3,5-dinitrotoluène (CAS n° 618-85-9), présentés dans le Tableau 1.

Le dinitrotoluène de qualité technique (*technical grade dinitrotoluene*, Tg-DNT), synthétisé par nitration du toluène, est un mélange d'isomères de dinitrotoluène (CAS n° 25321-14-6). Il est très majoritairement composé de 2,4-DNT (environ 75 % à 80 %) et de 2,6-DNT (environ 17 à 20 %). Il contient aussi les autres isomères du DNT (2,3-DNT (< 2 %), 2,5-DNT (< 0,8 %), 3,4-DNT (2 à 3 %) et 3,5-DNT (< 0,1 %) à une teneur totale inférieure à 5 % et d'autres impuretés comme les isomères du mononitrotoluène et du trinitrotoluène (ECHA 2010).

Tableau 1 : Identification des agents chimiques

	2,3-DNT	2,4-DNT	2,5-DNT	2,6-DNT	3,4-DNT	3,5-DNT
Numéro CAS	602-01-7	121-14-2	619-15-8	606-20-2	610-39-9	618-85-9
Numéro CE	210-013-5	204-450-0	210-581-4	210-106-0	210-222-1	210-566-2
Synonyme	1-Méthyl-2,3-dinitrobenzène	1-Méthyl-2,4-dinitrobenzène	2-Méthyl-1,4-dinitrobenzène	1-Méthyl-1,3-dinitrobenzène	4-Méthyl-1,2-dinitrobenzène	1-Méthyl-3,5-dinitrobenzène
Formule brute	$\text{C}_7\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_4$					
Formule topologique						

3.2 Propriétés physico-chimiques

Les principales propriétés physico-chimiques des isomères du DNT sont présentées dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques des isomères du dinitrotoluène (ATSDR 2016)




	2,3-DNT	2,4-DNT	2,5-DNT	2,6-DNT	3,4-DNT	3,5-DNT
Masse molaire (g.mol⁻¹)	182,13	182,13	182,13	182,13	182,13	182,13
Pt de fusion (°C)	59-61	71	52,5	66	58,3	93
Pt d'ébullition (°C)	284	300	284	285	284	315
Tension de vapeur à 20 °C (mmHg)	3,97.10 ⁻⁴ (estimée)	1,47.10 ⁻⁴	3,97.10 ⁻⁴ (estimée)	5,67.10 ⁻⁴	3,97.10 ⁻⁴ (estimée)	4,05.10 ⁻⁴
Solubilité dans l'eau (mg.L⁻¹)	220 (25 °C, estimée)	270 (22 °C)	220 (25 °C, estimée)	180 (20 °C)	100 (25 °C)	145 (25 °C)
Constante de Henry (atm.m³.mol⁻¹ à 25 °C)	9,26.10 ⁻⁸ (estimée)	5,4.10 ⁻⁸	9,26.10 ⁻⁸ (estimée)	2,2 × 10 ⁻⁸	4,42.10 ⁻⁹	1,35.10 ⁻⁸
log Kow	2,18 (estimée)	1,98	2,18 (estimée)	2,10	2,08	2,18 (estimée)
log Koc	-	2,56	-	-	-	-

- : absence de valeur

3.3 Classification

Au titre du règlement (CE) n° 1272/2008 (CLP), les isomères du DNT disposent d'une classification harmonisée selon la base de données de l'inventaire C&L² (Tableau 3, 4 et 5).

Tableau 3 : Classification CLP des 2,3-DNT et 2,4-DNT

Numéro INDEX du 2,3-DNT : 609-050-00-3 Numéro INDEX du 2,4-DNT : 609-007-009			
ATP du CLP	Classes et catégories de danger	Mentions de danger	Pictogrammes
CLP100	Toxicité aiguë par contact avec la peau cat. 3	H311 – Toxique par contact avec la peau	 GHS08
	Toxicité aiguë par ingestion cat. 3	H301 – Toxique en cas d'ingestion	
	Toxicité par inhalation de catégorie 3	H331 – Toxique par inhalation	
	Mutagène cat. 2	H341 – Peut causer des effets génétiques	 GHS06
	Cancérogène cat. 1B	H350 – Peut causer le cancer	
	STOT RE 2	H373 – risque d'effets graves pour les organes	 GHS09
	Reprotoxique cat. 2	H361f – Susceptible de nuire à la fertilité	
	Aquatique aigu 1	H400 – Très toxique pour les organismes aquatiques	
Aquatique chronique 1	H410 – Très toxique pour les organismes aquatiques, effets néfastes à long terme		

² <https://echa.europa.eu/fr/information-on-chemicals/cl-inventory-database>

Tableau 4 : Classification CLP des 2,5-DNT et 3,4-DNT






Numéro INDEX du 2,5-DNT : 609-055-00-0 Numéro INDEX du 3,4-DNT : 609-051-00-9			
ATP du CLP	Classes et catégories de danger	Mentions de danger	Pictogrammes
CLP100	Toxicité aiguë par contact avec la peau cat. 3	H311 – Toxique par contact avec la peau	 GHS08
	Toxicité aiguë par ingestion cat. 3	H301 – Toxique en cas d'ingestion	
	Toxicité par inhalation de catégorie 3	H331 – Toxique par inhalation	
	Mutagène cat. 2	H341 – Peut causer des effets génétiques	 GHS06
	Cancérogène cat. 1B	H350 – Peut causer le cancer	
	STOT RE 2	H373 – risque d'effets graves pour les organes	 GHS09
	Reprotoxique cat. 2	H361f – Susceptible de nuire à la fertilité	
Aquatique chronique 2	H411 – Toxique pour les organismes aquatiques, effets néfastes à long terme		

Tableau 5 : Classification CLP des 2,6-DNT et 3,5-DNT

Numéro INDEX du 2,6-DNT : 609-049-00-8 Numéro INDEX du 3,5-DNT : 609-052-00-4			
ATP du CLP	Classes et catégories de danger	Mentions de danger	Pictogrammes
CLP100	Toxicité aiguë par contact avec la peau cat. 3	H311 – Toxique par contact avec la peau	 GHS08
	Toxicité aiguë par ingestion cat. 3	H301 – Toxique en cas d'ingestion	
	Toxicité par inhalation de catégorie 3	H331 – Toxique par inhalation	
	Mutagène cat. 2	H341 – Peut causer des effets génétiques	 GHS06
	Cancérogène cat. 1B	H350 – Peut causer le cancer	
	STOT RE 2	H373 – risque d'effets graves pour les organes	
	Reprotoxique cat. 2	H361f – Susceptible de nuire à la fertilité	
Aquatique chronique 3	H412 – Nocif pour les organismes aquatiques, effets néfastes à long terme		

Le 2,4-DNT et le 2,6-DNT sont classés comme peut-être cancérogènes pour l'Homme (groupe 2B) par le Centre international de recherche sur le cancer (IARC 1996). Le 3,5-DNT est lui considéré comme inclassable quant à sa cancérogénicité pour l'Homme et les autres isomères du DNT n'ont pas été évalués par le CIRC. Comme indiqué dans les tableaux ci-dessus, les évaluations de la cancérogénicité des différents isomères du DNT réalisées par l'ECHA dans l'Union européenne ont abouti à des classements de tous les isomères dans la catégorie 1B des agents probablement cancérogènes pour l'Homme.

Concernant les effets perturbateurs endocriniens (PE), ni le mélange commercial, ni les différents isomères du DNT ne sont présents sur l'*ED list* ou classés comme substance extrêmement préoccupante (SVHC, *Substance of Very High Concern*) pour leurs propriétés PE dans le cadre de REACH. Le 2,4-DNT est classé dans la catégorie III (effets rapportés uniquement *in vivo* chez des rongeurs) de l'initiative DEDuCT³ (*Database of Endocrine Disrupting Chemicals and their Toxicity profiles*).

³ La méthodologie DEDuCT (<https://cb.imsc.res.in/deduct/>) est basée sur une analyse de la littérature scientifique existante contenant des preuves expérimentales de PE spécifiques chez l'Homme ou les rongeurs (Karthikeyan *et al.* 2019). Les substances identifiées sont classées en 4 catégories indiquant le niveau de preuve *a priori* (i.e. sans évaluation approfondie) : Catégorie I, lorsque les effets de PE de la substance sont rapportés *in vivo* chez l'Homme, Catégorie II, lorsque les effets sont rapportés *in vivo*

3.4 Sources et utilisations

En Europe, le Tg-DNT est synthétisé dans cinq ou six sites situés en France, en Allemagne, en Hongrie et au Royaume-Uni (ECHA 2010). Sa production totale serait comprise entre 540 000 et 810 000 tonnes par an. En considérant un pourcentage de 2,4-DNT de 80 %, le tonnage de 2,4-DNT pur serait compris entre 405 000 et 648 000 tonnes par an en Europe. La consommation de 2,4-DNT en France était d'environ 100 000 tonnes par an en 2010⁴.

Le DNT, sous sa forme contenant 80 % de 2,4-DNT, est presque exclusivement utilisé pour la synthèse de diisocyanate de toluène (TDI), après une étape d'hydrogénation donnant des diamines (2,4-diamino- et 2,6-diamino toluène). Le TDI est ensuite employé dans la fabrication de polyuréthanes, et en particulier de mousses de polyuréthane. Les autres utilisations du DNT, contenant des proportions variables de 2,4-DNT et d'autres isomères, sont marginales (Tableau 6).

Tableau 6 : Utilisation du DNT (d'après l'Ineris)

Proportion 2,4-DNT (%)	Utilisations
80	Précurseur pour la synthèse de diisocyanate de toluène (TDI ou diisocyanate de tolylène) (mélange d'isomères de 2,4-TDI et 2,6 TDI) utilisé pour la fabrication de mousses de polyuréthane
DNT95 ; DNT 65/50	Entre dans la production de propergol (produit de propulsion) (2,5 % à 17 % de DNT) lors de la fabrication de munitions comme agent plastifiant et imperméabilisant
DNT95 ; DNT 80 ; DNT 65/50	Production d'explosifs comme alternatives au TNT (2,4,6-trinitrotoluène), mais cette utilisation semble en baisse.
DNT 50/55	Utilisation dans l'industrie des métaux non ferreux comme agent de réticulation spécifique pour la production de matériaux réfractaires.

En Europe, le Tg-DNT a été, mais n'est plus employé dans les airbags (industries automobiles) et le 2,4-DNT pur a été, mais n'est plus utilisé dans la fabrication de colorants (ECHA, 2010).

Les isomères du DNT peuvent être libérés dans l'eau, l'air et le sol aux endroits où ils sont produits ou utilisés. Ils sont très rarement retrouvés en dehors des zones de fabrication ou des sites contenant des déchets contaminés.

chez des rongeurs et *in vitro* dans des expériences utilisant des cellules humaines, Catégorie III, lorsque les effets sont rapportés uniquement *in vivo* chez les rongeurs, Catégorie IV, lorsque les effets sont rapportés *in vitro* sur des cellules humaines.

⁴ D'après les données technico-économiques présentées sur le portail des substances chimiques de l'Ineris (https://substances.ineris.fr/substance/121-14-2#usage_entity).

4 Profil toxicologique

4.1 Toxicocinétique

Les seules études concernant la toxicocinétique du DNT se sont intéressées aux isomères 2,4-DNT et 2,6-DNT. Aucune étude portant sur les isomères 2,3-, 2,5-, 3,4- et 3,5-DNT chez l'Homme ou l'animal n'a été identifiée.

4.1.1 Absorption

L'absorption digestive du 2,4-DNT et du 2,6-DNT est rapide et relativement complète chez le rat (Rickert *et al.* 1983). Des études chez le rat, le lapin, le chien et le singe ont montré qu'elle est comprise entre 55 % et 90 %, et a principalement lieu au cours des 24 heures suivant l'administration par voie orale (Long et Rickert 1982 ; Rickert *et al.* 1981 ; Lee *et al.* 1978).

On ne dispose pas d'étude de l'absorption respiratoire du DNT.

Ex vivo, les absorptions transcutanées du 2,4-DNT et du 2,6-DNT dans l'acétone par la peau de porc ont été évaluées à 36 % et 24 % respectivement (Reifenrath *et al.* 2002). Certains auteurs considèrent d'ailleurs la voie cutanée comme une voie importante d'exposition pour les travailleurs (Brüning *et al.* 1999), comme cela est décrit par la Commission MAK (DFG 2023).

4.1.2 Distribution

Dans une étude menée sur le rat, il a été montré qu'après administration orale, les pics de concentrations plasmatique, érythrocytaire, hépatique et rénale de 2,4-DNT et de ses métabolites étaient proportionnels à la dose de 2,4-DNT administrée par voie orale (Rickert *et al.* 1980). Les concentrations dans le foie et les reins étaient 5 à 10 fois plus élevées que celles dans le plasma ou les érythrocytes. Elles étaient inférieures aux concentrations plasmatiques dans les autres tissus. Chez le rat mâle, les concentrations rénales de 2,4-DNT étaient maximales entre 4 et 8 heures après l'administration et étaient 3 à 10 fois plus élevées que chez la femelle, pour qui le pic a été atteint après 1 heure.

Dans une autre étude, chez le rat mâle, il a été observé qu'après administration orale de 2,4-DNT et de 2,6-DNT, un premier pic hépatique était atteint en 1 à 2 heures et un deuxième en 8 à 12 heures (Rickert *et al.* 1983). Chez la souris, 8 heures après l'administration, les concentrations en 2,6-DNT observées dans le foie et les reins étaient proches de celle dans le sang (Schut *et al.* 1983). Les concentrations au niveau cérébral, pulmonaire, cardiaque et splénique étaient en revanche très faibles.

Chez le chien et le singe, après administration orale, le 2,4-DNT a été majoritairement distribué dans le foie (Lee *et al.* 1978). La substance et ses métabolites ont également été retrouvés dans le sang, les reins et les muscles squelettiques des animaux.

4.1.3 Métabolisme

Le DNT est principalement métabolisé dans le foie et au niveau intestinal (à ce niveau, par le biais de la flore microbienne) (Long et Rickert 1982 ; Rickert *et al.* 1981).

Des études menées chez des travailleurs exposés principalement par voie cutanée au Tg-DNT ont montré la présence de 2,4-DNT, de 2,6-DNT, ainsi que celle de plusieurs de leurs

métabolites dans les urines. Les principaux métabolites étaient les acides dinitrobenzoïques, aminonitrobenzoïques et les dinitrobenzylglucuronides correspondants (Rickert *et al.* 1984 ; Rickert 1987 ; Harth *et al.* 2005) (Figure 4). Les métabolites aminonitrobenzoïques identifiés ont été les acides 2-amino-4-nitrobenzoïque, 4-amino-2-nitrobenzoïque, 2-amino-6-nitrobenzoïque et l'acide 4-(*N*-acétyl)amino-2-nitrobenzoïque. Une variation interindividuelle importante du métabolisme a été mise en évidence, mais sans qu'il y ait de différence systématique entre les femmes et les hommes.

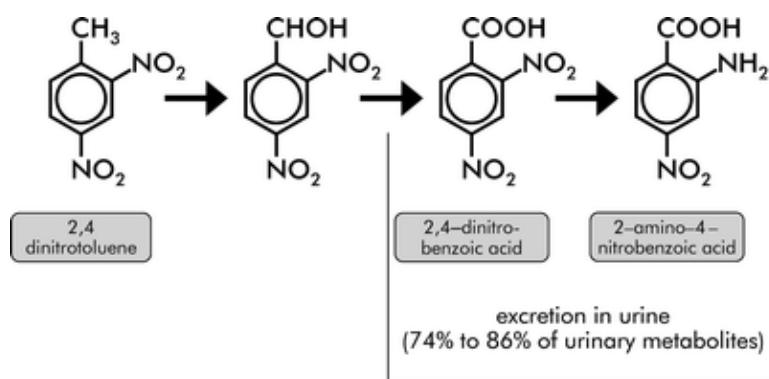


Figure 4 : Principale voie métabolique du 2,4-DNT chez l'Homme (Harth *et al.*, 2005)

Des études conduites chez des travailleurs d'une usine de fabrication de Tg-DNT (Levine *et al.* 1985 ; Turner *et al.* 1985) fournissent des informations plus détaillées sur le métabolisme du Tg-DNT. Les principaux métabolites détectés dans l'urine de 14 hommes et 3 femmes étaient les acides 2,4- et 2,6-dinitrobenzoïques et l'acide 2-amino-4-nitrobenzoïque. Dans l'urine de trois femmes, ces métabolites ont été détectés en même temps que des glucuronides des alcools dinitrobenzyles (2,4- et 2,6-). Exprimés en pourcentage du total des métabolites urinaires du DNT, les acides dinitrobenzoïques, l'acide 2-amino-4-nitrobenzoïque et les dinitrobenzyl glucuronides représentaient respectivement 52,5 %, 37,2 % et 9,5 % chez les hommes et 28,8 %, 37,6 % et 33,3 % chez les femmes. Cette différence peut s'expliquer par le faible nombre d'individus au sein de l'échantillon. Les métabolites du 2,4-DNT et du 2,6-DNT étaient présents dans des proportions à peu près identiques à celles des molécules parentes dans le Tg-DNT. Les hommes et les femmes ont excrété des quantités relativement faibles (< 1 % des métabolites urinaires) d'acide 2-(*N*-acétyl)amino-4-nitrobenzoïque (Levine *et al.* 1985). Contrairement aux résultats de l'étude de Levine *et al.*, l'acide 2,4-dinitrobenzoïque n'était pas l'un des principaux métabolites urinaires chez des travailleurs chinois exposés au Tg-DNT et aux mononitrotoluènes (Jones *et al.* 2005b). Chez ces derniers, l'acide 2,6-dinitrobenzoïque, l'acide 4-amino-2-nitrobenzoïque, l'acide 2-amino-4-nitrobenzoïque et l'alcool 2,6-dinitrobenzyle représentaient respectivement 27,3 %, 26,0 %, 21,6 % et 18,3 % de l'ensemble des métabolites urinaires du DNT.

Des études chez le rat ont montré qu'au niveau hépatique, le métabolisme du 2,4-DNT et du 2,6-DNT par le cytochrome P450 est majoritaire et conduit à la formation d'alcool dinitrobenzyle, qui est lui-même oxydé en acide dinitrobenzoïque par des alcool- et des aldéhyde-déshydrogénases ou converti en glucuronide conjugué par l'action de l'UDP-glucuronosyltransférase (Rickert et Long 1981 ; Long et Rickert 1982 ; Medinsky et Dent 1983 ; Mori *et al.* 1997). La Figure 5 présente les voies métaboliques identifiées du 2,6-DNT.

Les métabolites glucuroconjugués sont ensuite excrétés dans la bile, puis hydrolysés et réduits en alcool aminonitrobenzyle, puis diamino benzyle, dans l'intestin, notamment par les bactéries *Escherichia coli* de la flore intestinale (Guest *et al.* 1982 ; Mori *et al.* 1985). Les

métabolites déconjugués sont réabsorbés et transportés vers le foie par la circulation entéro-hépatique (Medinsky et Dent 1983). Dans le foie, le groupe amino formé par réduction d'un des groupes nitro est *N*-hydroxylé par un cytochrome P450 et conjugué au sulfate (Kedderis *et al.* 1984). Le conjugué sulfate est instable et peut être décomposé pour former un ion carbonium ou nitrénium pouvant être à l'origine d'effets toxiques. Ces derniers, très réactifs, peuvent entraîner des alkylations au niveau de certaines bases de l'ADN et provoquer des lésions tissulaires, notamment au niveau hépatique (Wiedenfeld 2014).

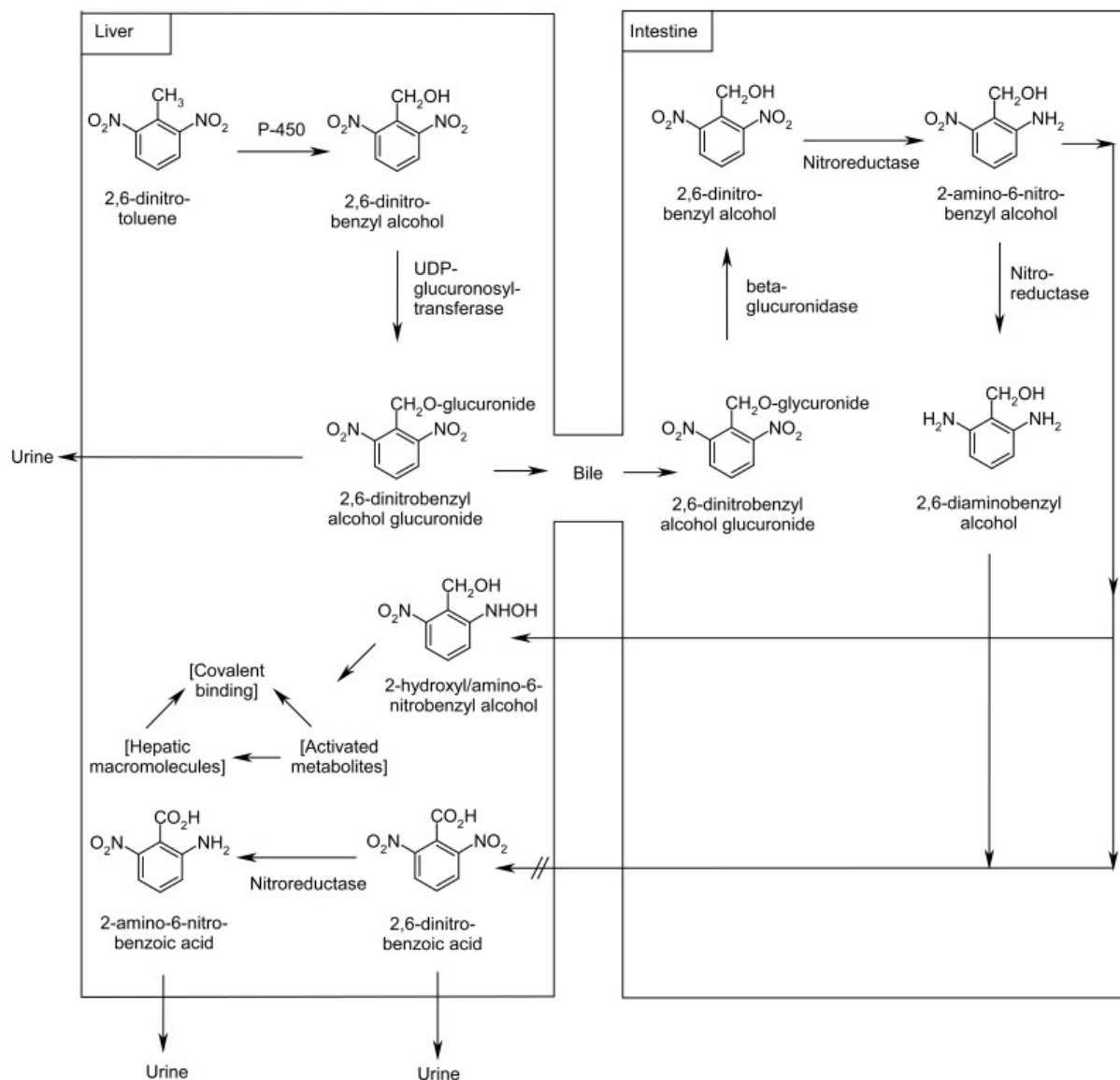


Figure 5 : Voies métaboliques proposées pour le 2,6-DNT (ATSDR 2016)

4.1.4 Excrétion

Dans une étude portant sur des travailleurs dont l'exposition au 2,4-DNT était supposée majoritairement cutanée, l'analyse d'échantillons urinaires a montré que le principal métabolite, l'acide 2,4-dinitrobenzoïque avait une demi-vie d'élimination comprise entre 2 et 5 heures (Woollen *et al.* 1985). Des traces ont néanmoins été détectées après plusieurs jours, laissant suspecter la présence d'un compartiment à élimination plus lente.

Chez la souris, les études ont montré des voies d'excrétion principales différentes en fonction des isomères du DNT après exposition par voie orale. L'une indique que le 2,6-DNT est majoritairement éliminé dans les urines, entre 49 % et 54 % après 8 heures selon la dose administrée (Schut *et al.* 1983), alors que l'autre montre que le 2,4-DNT a principalement été excrété dans les fèces, soit environ 78 % de la dose administrée (Lee *et al.* 1978).

Les études menées chez le rat ont montré que l'excrétion du 2,4-DNT et du 2,6-DNT était principalement urinaire, de 55 % à 90 % (Long et Rickert 1982 ; Rickert *et al.* 1981 ; Medinsky et Dent 1983).

4.2 Toxicité aiguë

4.2.1 Administration unique

4.2.1.1 Données chez l'Homme

Aucune étude chez l'Homme évaluant les effets aigus des isomères du DNT après une exposition court terme par voie orale n'a été identifiée.

4.2.1.2 Données chez l'animal

Les doses létales 50 (DL₅₀) orales pour les différents isomères du DNT sont présentées dans le Tableau 7.

Tableau 7 : DL₅₀ orale (en mg.kg pc⁻¹) pour les différents isomères du DNT chez le rat et la souris (Rickert *et al.* 1984 ; Vernot *et al.* 1977)

Espèce	Isomère	Back <i>et al.</i> 1972	Ellis <i>et al.</i> 1980		Vernot <i>et al.</i> 1977
			Mâle	Femelle	
Rat	2,3-DNT	1122	1102	911	1120
	2,4-DNT	268	568	650	270
	2,5-DNT	-	-	-	710
	2,6-DNT	177	535	795	180
	3,4-DNT	1072	907	807	-
Souris	2,3-DNT	1072	1372	1089	1070
	2,4-DNT	1625	1954	1340	1630
	2,5-DNT	-	-	-	1230
	2,6-DNT	1000	621	807	1000
	3,4-DNT	1414	859	747	-

La mortalité observée après 24 heures chez des rats femelles Sprague Dawley (SD) ayant reçu une administration orale unique de 398 mg.kg pc⁻¹ de 2,4-DNT ou de 2,6-DNT était de 20 % et 100 % respectivement (Deng *et al.* 2011). Chez ces rats, des diminutions du poids

corporel ou du gain de poids par rapport aux témoins ont été observées à 398 mg.kg pc⁻¹ pour le 2,4-DNT et 50 mg.kg pc⁻¹ pour 2,6-DNT. Selon les auteurs, celles-ci pourraient être en lien avec une réduction de la consommation alimentaire. Une baisse significative de l'albumine sérique a également été mise en évidence à 99 mg.kg pc⁻¹ de 2,4-DNT. Des doses avec et sans effet néfaste observé (LOAEL et NOAEL) ont été identifiées et sont présentées dans le Tableau 8.

Tableau 8 : NOAEL et LOAEL (mg.kg pc⁻¹) identifiés à partir de l'étude Deng *et al.* 2011 (ATSDR 2016)

Isomère	Effet	NOAEL	LOAEL
2,4-DNT	Hépatotoxicité	50	99
	Perte de poids	198	398
2,6-DNT	Hépatotoxicité	25	50

4.2.2 Administration répétée

4.2.2.1 Données chez l'Homme

Aucune donnée n'a été identifiée sur la toxicité du DNT chez l'Homme après une administration répétée par voie orale.

4.2.2.2 Données chez l'animal

Chacun des 6 isomères du DNT a été administré quotidiennement par gavage à des groupes de 6 rats Sprague Dawley pendant 14 jours (Lent *et al.* 2012a). Pour chaque isomère, six doses correspondant à une fraction de la DL₅₀ ont été testées (Tableau 9).

Tableau 9 : Doses testées pour les différents isomères en mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (Lent *et al.* 2012a)

Isomère	DL ₅₀	Fraction de la DL ₅₀						
		1/128	1/64	1/32	1/16	1/8	1/4	1/2
2,3-DNT	1102*	-	17	34	69	138	275	550
2,4-DNT	568*	-	9	18	36	71	142	284
2,5-DNT	616	-	10	19	39	77	154	308
2,6-DNT	535*	4	7	14	35	68	134	-
3,4-DNT	907*	7	14	28	57	113	227	-
3,5-DNT	310	-	5	10	19	39	77	155

* D'après Ellis *et al.* 1980

L'administration répétée de 2,3-DNT à la dose de 550 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ a entraîné une cyanose, une léthargie, un strabisme, des troubles respiratoires, une posture voûtée, une coloration foncée des urines et une diarrhée jaune chez tous les animaux. Tous les animaux de ce groupe sont morts avant la fin de l'étude. Par rapport au groupe témoin, les concentrations sériques d'albumine étaient significativement plus faibles dans les groupes recevant une dose de 17 ou 34 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. Les individus ayant reçu la dose la plus élevée ont présenté une coloration

marbrée du foie et un animal de chacun des groupes exposés à des doses de 17 ou 275 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ a présenté des kystes rénaux. Une augmentation moyenne significative de la masse rénale relative a été observée chez les rats du groupe exposé à 275 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. Une atrophie interstitielle testiculaire a été mise en évidence chez l'ensemble des rats exposés à la dose maximale, ainsi qu'une atteinte des tubules rénaux chez certains d'entre eux. Une hématoïèse extramédullaire était présente chez la moitié des individus exposés à la dose de 275 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.

L'hématoïèse extramédullaire correspond à la prolifération de tissu hématoïétique en dehors de la moelle osseuse. Ce processus est généralement une réaction à divers désordres hématologiques, en réponse à une inefficacité de l'hématoïèse médullaire ou à la destruction importante des érythrocytes à l'origine d'anémies hémolytiques. Les sites de prolifération de l'hématoïèse extramédullaire sont principalement les sites embryonnaires du tissu hématoïétique, comme le foie et la rate.

L'exposition au 2,4-DNT a entraîné l'apparition des mêmes symptômes à l'exception de la diarrhée, ainsi qu'un écoulement rouge autour du nez et une paralysie des membres chez la plupart des animaux ayant reçu la dose de 284 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. Tous les animaux du groupe sont morts après environ 3 jours. Une réduction significative du compte des hématies a été relevée chez les rats exposés à la dose de 142 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. Les individus du groupe recevant une dose de 9 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ ont présenté une diminution significative du poids relatif des reins. Le poids relatif de la rate a été augmenté chez les animaux à qui des doses de 71 ou 142 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ ont été administrées. À partir de 142 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, une diminution relative du poids des testicules et une dégénérescence des tubes séminifères ont été observées par rapport au groupe témoin. Tous les individus exposés à la dose de 142 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ ont présenté une hématoïèse extramédullaire, ainsi que la moitié de ceux exposés à la dose de 71 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.

Les rats exposés au 2,5-DNT ont présenté des signes de toxicité proches de ceux observés pour les autres isomères. Une diminution du compte des hématies en lien avec la dose a été mise en évidence dans les trois groupes les plus exposés (77, 154 et 308 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹). Les rats les plus exposés ont montré une élévation significative du compte de leucocytes, une diminution du pourcentage des éosinophiles et une augmentation relative du poids du cœur. Une rate foncée et hypertrophiée a été observée chez la plupart des animaux exposés à 308 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (4/5) et chez tous ceux exposés à la dose de 154 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. La moitié des rats recevant la dose de 39 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ ont présenté une hématoïèse extramédullaire, ainsi que la totalité de ceux faisant partie des trois groupes les plus exposés.

Aucun signe clinique n'a été observé après l'administration de 2,6-DNT à part une coloration foncée des urines chez un tiers des rats (2/6) exposés à la plus forte dose (134 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹). Les animaux du groupe le moins exposé et de celui le plus exposé ont présenté une diminution significative du compte des hématies circulantes. Une élévation dose-dépendante des enzymes hépatiques (phosphatase alcaline, transaminases) a été mise en évidence dans les trois groupes les plus exposés. À partir de 35 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, une hypertrophie hépatocellulaire a été détectée chez la majorité des animaux. Tous les animaux du groupe le plus exposé présentaient une diminution de la taille des testicules. Les rats exposés à 68 et 134 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ ont également présenté une dégénérescence des tubes séminifères, des cellules géantes polynucléées et une atrophie interstitielle au niveau testiculaire. Une augmentation relative du poids des reins a été observée dans les groupes recevant les doses de 14, 68 et 134 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. Quatre des 6 animaux recevant la dose de 134 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ ont présenté une dégénérescence des tubules rénaux. Dans les deux groupes les plus exposés, une augmentation relative du poids de la rate a aussi été observée. Une

érythropoïèse extramédullaire a été mise en évidence chez un individu du groupe 68 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ et chez l'ensemble de ceux du groupe 134 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.

Chez les rats recevant du 3,4-DNT, une cyanose, une léthargie, des urines foncées, des contractions faciales et une hypoactivité oculaire ont été observées dans le groupe auquel la dose la plus élevée a été administrée (227 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹). Une diminution du taux d'hémoglobine et de l'hématocrite a aussi été constatée dans plusieurs groupes (14, 28 et 113 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹). L'exposition aux différents isomères a été associée à une augmentation du poids corporel, excepté chez les animaux des groupes les plus exposés, lesquels sont morts avant la fin de l'étude. Le poids relatif du foie était augmenté chez les rats des deux groupes les plus exposés. Une fibrose myocardique, une inflammation et une nécrose ont été observées chez un individu du groupe le plus exposé. Une partie des individus des trois groupes les plus exposés a présenté une érythropoïèse extramédullaire.

Des signes de toxicité ont été observés chez les deux groupes de rats les plus exposés au 3,5-DNT (77 et 155 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹), lesquels sont morts ou ont dû être sacrifiés après 8 et 3 jours respectivement. Des atteintes neurologiques (contraction faciale, mouvements de tête, paralysie) ont été mises en évidence à partir de 39 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. À partir de 19 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, des rats ont présenté de petits testicules ainsi qu'une dégénérescence des tubes séminifères avec formation de cellules géantes polynucléées et atrophie interstitielle des tissus testiculaires. Une hématopoïèse extramédullaire a été observée chez un tiers des animaux exposés aux doses de 77 et 155 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.

Les principaux effets observés sont reportés dans le Tableau 10.

Tableau 10 : Résumé de certains effets liés à l'exposition pendant 14 jours à différents isomères du DNT chez des rats Sprague Dawley et des LOAEL (et NOAEL) associés (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) (Lent *et al.* 2012a)

		2,3-DNT	2,4-DNT	2,5-DNT	2,6-DNT	3,4-DNT	3,5-DNT
Mortalité		550 (275)	284 (142)	-	-	-	77 (39)
Diminution du poids (> 10 %)		550 (275)	284 (142)	-	134 (68)	-	39 (19)
Hématotoxicité	↓ compte des hématies	-	142 (71)	77 (39)	14 (7)	14 (7)	-
	↑ poids relatif de la rate	-	71 (36)	77 (39)	68 (35)	-	-
	Hématopoïèse extramédullaire	275 (138)	36 (18)	39 (19)	68 (35)	57 (28)	77 (39)
Hépatotoxicité	↑ poids relatif du foie	275 (138)	-	-	-	113 (57)	-
	↑ ASAT et ALAT*	-	-	-	68 (35)	-	-
	Lésions néoplasiques	-	18 (9)	-	35 (14)	-	-
Reprotoxicité	↑ poids testiculaire relatif	-	142 (71)	-	134 (68)	-	19 (10)
	Lésions non néoplasiques	550 (275)	142 (71)	-	68 (35)	-	19 (10)
Neurotoxicité	Atteintes musculaires	-	284 (142)	-	-	227 (113)	39 (19)
Néphrotoxicité	↑ poids rénal relatif	275 (138)	9	-	14 (7)	-	-
	Lésions non néoplasiques	550 (275)	-	-	134 (68)	227 (113)	-
Cardiotoxicité	Lésions non néoplasiques	-	-	308 (154)	-	227 (113)	-

* Aspartate et alanine aminotransférases

4.3 Toxicité subchronique et chronique

4.3.1 Données chez l'Homme

Très peu d'études chez l'Homme portent sur la toxicité subchronique et chronique du DNT. Lors d'un suivi médical pendant 12 mois dans une usine de fabrication de poudre contenant du 2,4-DNT, 112 travailleurs sur 154 se sont plaints de différents symptômes et 84 d'entre eux présentaient des preuves objectives de maladie (McGee *et al.* 1942). Les principaux symptômes recueillis étaient la fatigue (51 %), des céphalées (49 %), une perte d'appétit (47 %), des sensations vertigineuses (44 %), des nausées (37 %), une insomnie (37 %), des paresthésies des extrémités (26 %), des vomissements (23 %) et une cyanose (23 %). Des

signes biologiques ont aussi été relevés : anémie (23 %), hyperleucocytose (12 %) et leucopénie (3,2 %). Cependant, l'exposition concomitante à d'autres composés ne pouvant être exclue, l'attribution de ces symptômes au 2,4-DNT est incertaine. De plus, la voie d'exposition n'est pas décrite.

4.3.2 Données chez l'animal

Des données concernant la toxicité subchronique et chronique du DNT n'ont été trouvées que pour le 2,4-DNT et le 2,6-DNT.

4.3.2.1 2,4-DNT

Les différentes études concernant la toxicité orale subchronique et chronique du 2,4-DNT ont montré principalement des effets hématologiques (Tableau 11), hépatiques (Tableau 12), neurologiques (* ASAT : aspartates aminotransférases ; ** LDH : lactates déshydrogénases Tableau 13) et sur le poids corporel.

Tableau 11 : Résumé des effets hématologiques du 2,4-DNT observés chez l'animal. Les doses indiquées correspondent au LOAEL et au NOAEL lorsqu'il a pu être identifié (ATSDR 2016)

Espèce (souche)	Sexe	Durée	LOAEL (NOAEL) mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	Effets	Référence
<i>Exposition moyen terme</i>					
Rat (Wistar)	M	6 mois	371	Méthémoglobinémie	Kozuka <i>et al.</i> 1979
Rat (SD*)	M	91 jours	93 (34)	Réticulocytose, hémossidérose splénique	Lee <i>et al.</i> 1985
	F		108 (38) 145 (108)	Anémie Réticulocytose, hémossidérose splénique Anémie	
Souris (CD-1)	F	91 jours	468 (147)	Légère anémie, réticulocytose	Hong <i>et al.</i> 1985
Chien Beagle	-	91 jours	25 (5)	Anémie, corps de Heinz**	Ellis <i>et al.</i> 1979
<i>Exposition long terme</i>					
Rat (SD)	M	2 ans	3,9 (0,6)	Diminution du compte d'hématies	Lee <i>et al.</i> 1985
	F		34,5 (3,9) 45,3 (5,1)	Anémie Anémie	
Souris (CD-1)	M/F	1 an	898 (95)	Anémie, réticulocytose, corps de Heinz, thrombocytose	Hong <i>et al.</i> 1985
Chien Beagle	F	1 an	0,2	Réticulocytose	Ellis <i>et al.</i> 1985
Chien Beagle	M	2 ans	1,5 (0,2)	Méthémoglobinémie, anémie	Ellis <i>et al.</i> 1985

* SD : Sprague Dawley ; ** Les corps de Heinz sont des fragments d'hémoglobine présents dans les érythrocytes et souvent révélateurs d'une anémie hémolytique.

Tableau 12 : Résumé des effets hépatiques du 2,4-DNT observés chez l'animal. Les doses indiquées correspondent au LOAEL et au NOAEL lorsqu'il a pu être identifié (ATSDR 2016)

Espèce (espèce)	Sexe	Durée	LOAEL (NOAEL) mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	Effets	Référence
<i>Exposition moyen terme</i>					
Rat (Wistar)	M	6 mois	371	Augmentations de : poids du foie, ASAT*, LDH**, phosphatases alcaline et acide, triglycérides, glycémie	Kozuka <i>et al.</i> 1979
Souris (CD-1)	M	91 jours	137 (47)	Légère dysplasie hépatocellulaire	Hong <i>et al.</i> 1985
	F		468 (147)		
<i>Exposition long terme</i>					
Rat (F344)	M	1 an	27	Dégénérescence hépatocellulaire, vacuolisation, altérations cellulaires	Leonard <i>et al.</i> 1987
Souris (CD-1)	M	2 ans	14	Dysplasie hépatocellulaire	Hong <i>et al.</i> 1985
Chien Beagle	-	2 ans	10 (1,5)	Hyperplasie biliaire	Ellis <i>et al.</i> 1985

* ASAT : aspartates aminotransférases ; ** LDH : lactates déshydrogénases

Tableau 13 : Résumé des effets neurologiques du 2,4-DNT observés chez l'animal. Les doses indiquées correspondent au LOAEL et au NOAEL lorsqu'il a pu être identifié (ATSDR 2016)

Espèce (souche)	Sexe	Durée	LOAEL (NOAEL) mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	Effets	Référence
<i>Exposition moyen terme</i>					
Rat (Wistar)	M	6 mois	347	Troubles de la coordination	Kozuka <i>et al.</i> 1979
Rat (SD)	M	91 jours	93 (34)	Démýélinisation du cervelet et du tronc cérébral, démarche large et raide	Lee <i>et al.</i> 1985
	F		145 (108)		
Chien Beagle	-	91 jours	25 (5)	Incoordination, raideur anormale, paralysie	Ellis <i>et al.</i> 1985
<i>Exposition long terme</i>					
Rat (SD)	M	2 ans	34,5 (3,9)	Démarche large, pattes raides	Lee <i>et al.</i> 1985
	F		45,3 (5,1)		
	-	2 ans	1,5 (0,2)	Perte du contrôle de l'arrière-train, convulsions	
Souris (CD-1)	-	2 ans	898 (95)	Raideur des membres postérieurs, hyperactivité	Hong <i>et al.</i> 1985

4.3.2.2 2,6-DNT

Des groupes de 6 rats SD mâles ont été exposés pendant 29 jours, par gavage, à des doses de 0, 3,3, 10 ou 33 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ de 2,6-DNT (Rothfuss *et al.* 2010). Les effets hépatiques suivants ont été observés chez les rats du groupe le plus exposé : hypertrophie hépatocellulaire diffuse, vacuolisation hépatocellulaire, nécrose unicellulaire et hyperplasie des voies biliaires.

L'armée américaine a mené des tests sur des groupes de 8 chiens Beagle, auxquels ont été administrées quotidiennement des gélules contenant l'équivalent de 0, 4, 20 ou 100 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ de 2,6-DNT pendant 13 semaines (Lee *et al.* 1976). Six animaux du groupe le plus exposé sont morts avant la fin de la 8^e semaine et le traitement a été arrêté chez les deux autres après 4 semaines, suite à l'apparition de signes cliniques graves. Une légère érythropoïèse extramédullaire a été observée à partir de l'exposition la plus faible. À partir de 20 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, des effets hépatiques (hyperplasie des voies biliaires, modifications dégénératives et inflammatoires), rénaux (tubules dilatés, foyers dégénératifs) et neurologiques (incoordination, perte d'équilibre) ont été mis en évidence.

Des groupes composés de 32 rats SD, dont 16 mâles et 16 femelles, ont été exposés pendant deux ans *via* l'alimentation à des doses de 0, 7,2, 35 ou 145 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour les mâles et 0, 7,4, 37 ou 155 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour les femelles (Lee *et al.* 1985). Des effets hématologiques (hémosidérose splénique, hématopoïèse extramédullaire) et hépatiques (hyperplasie des voies biliaires, hémosidérose) ont été observés à partir des doses intermédiaires.

De la même manière, des groupes de 32 souris Swiss albinos ont été exposés à des doses de 11, 51 ou 289 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour les mâles et 11, 55 ou 299 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour les femelles. Une hyperplasie des voies biliaires et une hématopoïèse extramédullaire ont été observées dans les deux groupes les plus exposés.

Tableau 14 : Résumé des effets hépatiques du 2,6-DNT observés chez l'animal. Les doses indiquées correspondent au LOAEL et au NOAEL lorsqu'il a pu être identifié (ATSDR 2016)

Espèce (souche)	Sexe	Durée	LOAEL (NOAEL) mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	Effets	Référence
<i>Exposition moyen terme</i>					
Rat (SD)	M	29 jours	33	Hypertrophie hépatocellulaire, nécrose, hyperplasie des voies biliaires, vacuolisation hépatocellulaire	Rothfuss <i>et al.</i> 2010
Rat (SD)	M F	91 jours	35 (7) 37 (7)	Hyperplasie des voies biliaires, hémosidérose splénique	Lee <i>et al.</i> 1976
Souris (Swiss albino)	M F	91 jours	51 (11) 55 (11)	Hyperplasie des voies biliaires	Lee <i>et al.</i> 1976
Chien Beagle	M/F	91 jours	20 (4)	Hyperplasie des voies biliaires, modifications hépatiques dégénératives et inflammatoires	Lee <i>et al.</i> 1976
<i>Exposition long terme</i>					
Rat (F344)	M	1 an	7	Dégénérescence hépatocellulaire, vacuolisation, foyers acidophiles et basophiles d'altération cellulaire	Leonard <i>et al.</i> 1987

4.4 Reprotoxicité et toxicité sur le développement

4.4.1 Reprotoxicité

4.4.1.1 Données chez l'Homme

Aucune donnée portant spécifiquement sur la reprotoxicité du DNT chez l'Homme après exposition par voie orale n'a été identifiée. Cependant, une étude épidémiologique de type exposés-non exposés a investigué les effets liés à l'exposition professionnelle au Tg-DNT et à la toluènediamine (Hamill *et al.* 1982). Elle a évalué les capacités reproductrices masculines, telles que la fertilité, le volume testiculaire, la concentration sérique d'hormone folliculo-stimulante (FSH) et analysé le nombre et la morphologie des spermatozoïdes. Aucune différence entre les personnes exposées et celles non exposées n'a été mise en évidence.

4.4.1.2 Données chez l'animal

Les données existantes concernant la reprotoxicité du 2,4-DNT sont résumées dans le Tableau 15. Chez le mâle, une baisse de la fertilité, des atteintes des tubes séminifères et des testicules ont été observées suite à des expositions court, moyen et long termes. Chez la femelle, une baisse de la fertilité, des difficultés à la parturition, une atrophie ovarienne et des dysfonctionnements folliculaires ont été mis en évidence suite à des expositions moyen et court terme (Ellis *et al.* 1979). Les données concernant le 2,6-DNT sont moins nombreuses et ont montré, suite à des expositions court et moyen termes, des atteintes testiculaires et une diminution de la spermatogenèse (Tableau 16).

Tableau 15 : Résumé des effets reprotoxiques du 2,4-DNT chez l'animal et des doses correspondant au LOAEL et au NOAEL lorsqu'il a pu être identifié (ATSDR 2016)

Espèce (souche)	Sexe	Durée	LOAEL (NOAEL) mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	Effets	Référence
<i>Exposition court terme</i>					
Rat (SD)	M	5 jours	180 (60)	Baisse de la fertilité	Lane <i>et al.</i> 1985
Rat (SD)	M	14 jours	142 (71)	Diminution des poids testiculaire et épидидymaire, dégénérescence des tubes séminifères, atrophie interstitielle testiculaire	Lent <i>et al.</i> 2012a
Rat (SD)	M	14 jours	78	Diminution de l'épaisseur des couches de cellules germinales	McGown <i>et al.</i> 1983
Souris (DBA/2J)	M	2 jours	250	Baisse de la fertilité	Soares et Lock 1980
<i>Exposition moyen terme</i>					
Rat (SD)	M	21 jours	76,7	Spermatides polynucléées, légère irrégularité de la lame basale, vacuolisation et accumulation de lipides dans les cellules de Sertoli	Bloch <i>et al.</i> 1988
Rat (SD)	M	91 jours	93 (9,3)	Baisse de la fertilité, diminution de la spermatogenèse	Lee <i>et al.</i> 1985
Rat (Wistar)	M	6 mois	371	Atrophie testiculaire	Kozuka <i>et al.</i> 1979
Rat (SD)	F	6 mois	45,3 (5,1)	Baisse de la fertilité, parturition difficile	Ellis <i>et al.</i> 1979
Souris (CD-1)	M	91 jours	413 (137)	Légère dégénérescence des tubes séminifères	Lee <i>et al.</i> 1978
Chien Beagle	M	91 jours	25 (5)	Dégénérescence testiculaire, diminution de la spermatogenèse	Ellis <i>et al.</i> 1985
<i>Exposition long terme</i>					
Rat (SD)	M	2 ans	34,5 (3,9)	Atrophie des tubules séminifères, aspermatogenèse	Lee <i>et al.</i> 1978
Souris (CD-1)	M	2 ans	14	Baisse de la spermatogenèse, dégénérescence, atrophie testiculaire	Ellis <i>et al.</i> 1979
Souris (CD-1)	F	2 ans	898 (95)	Atrophie ovarienne, non fonctionnement des follicules	Ellis <i>et al.</i> 1979

Tableau 16 : Résumé des effets reprotoxiques du 2,6-DNT observés chez l'animal et des doses correspondant au LOAEL et au NOAEL lorsqu'il a pu être identifié (ATSDR 2016)

Espèce (souche)	Sexe	Durée	LOAEL (NOAEL) mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	Effets	Référence
<i>Exposition court terme</i>					
Rat (SD)	M	14 jours	68 (35)	Dégénérescence des tubes séminifères, formation de cellules géantes polynucléées, atrophie interstitielle des testicules	Lent <i>et al.</i> 2012
<i>Exposition moyen terme</i>					
Rat (SD)	M	91 jours	35 (7)	Diminution de la spermatogenèse, dégénérescence testiculaire	Lee <i>et al.</i> 1976
Souris (Swiss albino)	M	91 jours	51 (11)	Diminution de la spermatogenèse	Lee <i>et al.</i> 1976
Chien Beagle	M	91 jours	20 (4)	Dégénérescence testiculaire	Lee <i>et al.</i> 1976

Une seule étude a montré des effets reprotoxiques associés à une exposition au 3,5-DNT (Lent *et al.* 2012b). Dans les groupes de 6 rats SD mâles exposés quotidiennement pendant 14 jours par gavage à des doses de 19 et 39 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, ont été observés une réduction significative de la taille et du poids des testicules, une dégénérescence des tubes séminifères et la formation de cellules géantes polynucléées dans les testicules. Ces observations n'ont pas eu lieu dans les groupes de dose 5 et 10 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. Les rats exposés à des doses supérieures n'ont pas survécu, mais ont aussi présenté des atteintes testiculaires.

4.4.2 Toxicité sur le développement

4.4.2.1 Données chez l'Homme

Aucune étude n'a été identifiée concernant les effets du DNT sur le développement chez l'Homme.

4.4.2.2 Données chez l'animal

Une étude sur trois générations s'est intéressée à la toxicité du 2,4-DNT sur la reproduction chez le rat SD (Ellis *et al.* 1979). Pour chaque génération, les parents ont été exposés pendant 3 à 6 mois à des doses de 0, 0,6, 3,9 ou 34,5 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour les mâles et 0, 0,7, 5,1 et 45,3 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour les femelles. Les effets étudiés ont été la taille des portées, la viabilité, le poids de naissance et au moment du sevrage, et le sexe-ratio. Aucune anomalie n'a été observée chez les petits, quelle que soit la génération. La diminution de la viabilité des petits des mères les plus exposées était le résultat d'une incidence élevée de décès maternels lors de la naissance et d'une négligence maternelle.

Une autre étude a évalué les effets tératogènes du Tg-DNT chez le rat F344 en administrant quotidiennement par gavage à des femelles gestantes des doses de 14, 35, 37,5, 75, 100 ou 150 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ du 7^e au 20^e jour de gestation (Price *et al.* 1985). La substance utilisée contenait 76 % de 2,4-DNT, 19 % de 2,6-DNT, 2,4 % de 3,4-DNT, 1,5 % de 2,3-DNT et moins

de 1 % de 2,5-DNT et de 3,5-DNT. Aucun effet significatif n'a été observé sur la croissance ou le développement fœtal. Une légère modification des paramètres hématologiques et une altération du poids de certains organes comme la rate et le foie ont été relevées chez les fœtus des mères exposées, sans qu'une relation dose-réponse soit mise en évidence. Une mortalité prénatale plus importante, mais non statistiquement significative, a été observée chez les fœtus des mères exposées à la dose la plus élevée, soit $150 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$.

4.5 Génotoxicité

4.5.1 Données chez l'Homme

Une étude épidémiologique chez des travailleurs exposés au DNT et au TNT, pour lesquels l'inhalation n'était vraisemblablement pas la voie d'exposition principale, a mis en évidence une augmentation significative des aberrations chromosomiques à partir d'échantillons de sang périphérique (délétions, translocations, cassures) suggérant un effet clastogène chez les jeunes travailleurs exposés au 2,4-DNT. Les individus avec un génotype nul de la glutathion S-transférase T1 (GSTT1) ou un phénotype acétyleur rapide de la *N*-acétyltransférase 1 présentaient une augmentation significative du nombre d'aberrations chromosomiques (Sabbioni *et al.* 2006).

4.5.2 Données chez l'animal

Les études portant sur la génotoxicité *in vivo* des différents isomères du DNT sont résumées dans le

Tableau 17. Aucune d'entre elles n'a montré d'effets génotoxiques pour le 2,3-DNT, le 2,5-DNT et le 3,5-DNT. Si les données concernant le 2,4-DNT n'ont pas toutes montré sa génotoxicité, c'est le cas d'une majeure partie d'entre elles. Les études recensées sont en faveur du caractère génotoxique du 2,6-DNT.

Tableau 17 : Résumé des études sur la génotoxicité *in vivo* des différents isomères du DNT (ATSDR 2016)

Isomère	Modèle	Cible	Effet	Test	Résultat	Référence
2,3-DNT	Rat mâle SD*	Hépatocytes	Domages à l'ADN	Comètes	-	Lent <i>et al.</i> 2012b
	Rat mâle SD	Sang périphérique	Altérations chromosomiques	Micronoyaux	-	Lent <i>et al.</i> 2012b
2,4-DNT	Rat mâle F344	Hépatocytes	Synthèse d'ADN non programmée		+	Mirsalis <i>et al.</i> 1989
	Rat mâle F344	Hépatocytes	Synthèse d'ADN non programmée		+	Mirsalis <i>et al.</i> 1982
	Rat mâle F344	Hépatocytes	Synthèse d'ADN non programmée		+	Ashby <i>et al.</i> 1985
	Rat mâle SD	Hépatocytes	Domages à l'ADN	Comètes	-	Lent <i>et al.</i> 2012b
	Rat mâle F344	Hépatocytes	Adduits à l'ADN		+	La <i>et al.</i> 1993
	Rat mâle F344	Hépatocytes	Altérations chromosomiques	Micronoyaux	+	Suzuki <i>et al.</i> 2009

	Rat mâle F344	Hépatocytes	Altérations chromosomiques	Micronoyaux	+	Takasawa <i>et al.</i> 2010
	Rat mâle SD	Hépatocytes	Altérations chromosomiques	Micronoyaux	-	Lent <i>et al.</i> 2012b
	Souris mâle CBA × BalbC	Moelle osseuse	Altérations chromosomiques	Micronoyaux	-	Ashby <i>et al.</i> 1985
	Souris femelle DBA/2J		Mutation génétique	Spot test	-	Soares et Lock 1980
2,5-DNT	Rat mâle SD	Hépatocytes	Dommages à l'ADN	Comètes	-	Lent <i>et al.</i> 2012b
	Rat mâle SD	Sang périphérique	Altérations chromosomiques	Micronoyaux	-	Lent <i>et al.</i> 2012b
2,6-DNT	Rat mâle SD	Hépatocytes	Dommages à l'ADN	Comètes	+	Lent <i>et al.</i> 2012b
	Rat mâle SD	Hépatocytes	Dommages à l'ADN	Comètes	+	Suzuki <i>et al.</i> 2011
	Rat mâle SD	Hépatocytes	Dommages à l'ADN	Comètes	+	Rothfuss <i>et al.</i> 2010
	Rat mâle SD	Sang périphérique	Dommages à l'ADN	Comètes	+	Rothfuss <i>et al.</i> 2010
	Rat mâle F344	Hépatocytes	Adduits à l'ADN		+	Chadwick <i>et al.</i> 1993
	Rat mâle F344	Hépatocytes	Adduits à l'ADN		+	George <i>et al.</i> 1996
	Souris mâle B6C3F et CD-1	Hépatocytes	Adduits à l'ADN		+	George <i>et al.</i> 1996
	Rat mâle SD	Sang périphérique	Altérations chromosomiques	Micronoyaux	-	Lent <i>et al.</i> 2012b
	Rat mâle F344	Hépatocytes	Altérations chromosomiques	Micronoyaux	±	Takasawa <i>et al.</i> 2010
	Rat mâle SD	Moelle osseuse	Altérations chromosomiques	Micronoyaux	-	Rothfuss <i>et al.</i> 2010
3,5-DNT	Rat mâle SD	Hépatocytes	Dommages à l'ADN	Comètes	-	Lent <i>et al.</i> 2012b
	Rat mâle SD	Sang périphérique	Altérations chromosomiques	Micronoyaux	-	Lent <i>et al.</i> 2012b

* SD : Sprague Dawley

4.5.3 Données *in vitro*

4.5.3.1 Études sur des cellules de mammifères

Des aberrations chromosomiques ont été observées sur des fibroblastes pulmonaires de hamsters chinois exposés à des doses de 2,6-DNT de 350 ou 400 µg.L⁻¹ en présence d'activateur métabolique S9 (Suzuki *et al.* 2011). Des aberrations ont aussi été mises en évidence sur des lymphocytes humains exposés à une concentration de 91 mg.L⁻¹ (0,5 mmol.L⁻¹) de 2,4-DNT (Huang *et al.* 1996). Des dommages sur l'ADN ont été révélés par

le test des comètes sur des cellules de Sertoli de rat exposées au 2,4-DNT ou au 2,6-DNT (Yang *et al.* 2005).

Les études portant sur les isomères 2,3-DNT, 2,5-DNT, 3,5-DNT et le Tg-DNT n'ont pas mis en évidence de génotoxicité (Abernethy et Couch 1982 ; Styles et Cross 1983).

Tableau 18 : Mutagénicité des isomères du DNT sur des cellules ovariennes de hamster chinois (Abernethy et Couch 1982)

Composé	Concentration		Fréquence des mutations ($\times 10^{-6}$)	
	mM	mg.L ⁻¹	-PMS*	+PMS
DMSO**	440	34 400	10,6	8,0
2,3-DNT	0,1	18	11,2	5,9
2,4-DNT	3,0	550	7,8	10,0
2,5-DNT	0,5	91	1,5	< 5,0
2,6-DNT	2,5	460	3,1	4,5
3,4-DNT	0,1	18	3,8	5,2
3,5-DNT	2,0	360	4,8	1,5
Tg-DNT	2,0	360	5,4	1,1
Benzo[a]pyrène	0,02	5	8,3	240

** PMS : post-mitochondrial supernatant (S9) ; ** DMSO : dyméthylsulfoxyde

4.5.3.2 Études sur *Salmonella typhimurium*

Des essais de mutations génétiques pour les six isomères du DNT et le Tg-DNT ont été réalisés. Leurs résultats ne sont pas tous concordants et ne fournissent pas de preuves suffisamment solides pour déterminer le caractère génotoxique ou non des agents chimiques testés (Annexe 3). D'une étude à l'autre, la variation des résultats peut probablement s'expliquer par les différences au niveau de la sensibilité des souches et du besoin d'activation métabolique (ATSDR 2016). En effet, certains composés produisent des effets toxiques après avoir été métabolisés et c'est pour cela qu'est parfois ajouté un extrait de foie de rat (appelé S9) afin de simuler le métabolisme hépatique.

4.6 Cancérogénicité

4.6.1 Données chez l'Homme

Une étude épidémiologique, portant sur une cohorte de 421 travailleurs et dans laquelle les expositions n'ont pas été quantifiées, n'est pas parvenu à mettre en évidence de lien entre l'exposition au 2,4-DNT ou au Tg-DNT et l'apparition de cancer, étant limitée par un nombre réduit de cas de cancers (Levine *et al.* 1986). Selon les auteurs de l'étude, une multiplication par huit des cas de cancer du foie et de la vésicule biliaire chez les travailleurs exposés serait nécessaire pour une détection au seuil de $p = 0,05$.

Une autre étude épidémiologique, portant sur une cohorte rétrospective de 4102 hommes ayant travaillé sur une installation de production de munitions et de moteurs de fusée, a montré une association entre l'exposition au DNT et le risque d'apparition de cancers du foie et des

voies biliaires (Stayner *et al.* 1993). Une hausse significative de la mortalité par cancer hépatobiliaire a été observée chez les travailleurs exposés par rapport à ceux non exposés (ratio des taux standardisés = 3,88 ; IC_{95%} = [1,04 ; 14,41]). Les auteurs estiment que l'exposition a principalement eu lieu par voie cutanée et par inhalation. Le faible nombre de cas de cancers relevé (6 cas), la durée d'exposition relativement courte (moins de 4 mois pour la moitié des cas) et l'exposition probable à d'autres substances limitent cependant l'interprétation des résultats.

Parmi 500 mineurs ayant manipulé des bâtons explosifs contenant du Tg-DNT et exposés pour la plupart pendant au moins vingt ans, 6 cas de cancer urothélial et 14 cas de cancer rénal ont été répertoriés, ce qui correspond à des risques 4,5 et 14,3 fois supérieurs à ceux issus des registres de cancers (Brüning *et al.* 1999). L'exposition des travailleurs a été évaluée de manière rétrospective par interrogation des individus, qui ont ainsi été répartis en quatre catégories d'exposition (basse, moyenne, élevée et très élevée). Cela n'a cependant pas permis de mettre en évidence de relation dose-réponse. Tous les individus atteints d'un cancer urothélial étaient des acétyleurs lents.

Une autre étude, portant également sur des travailleurs exposés au DNT pendant douze ans, a décrit trois cas de tumeur maligne des voies urinaires sur une cohorte de 60 travailleurs ayant été employés dans des usines de fabrication de DNT pendant une douzaine d'années (Harth *et al.* 2005). L'incidence observée était ainsi 15,9 fois supérieure à celle de la population générale. Le ratio d'incidence n'a cependant pas été ajusté en fonction de l'âge et du tabagisme. Par ailleurs, les niveaux d'exposition n'ont pas été évalués et le lien de causalité n'est pas certain, les travailleurs ayant été exposés en parallèle à d'autres substances (nitrate d'ammonium, nitrobenzène, nitroglycol, nitrates, acide sulfurique, farine de bois, etc.).

Une augmentation du risque de cancer du poumon (RSI⁵ = 1,29 ; IC_{95%} = [1,13 ; 1,46]) a été mise en évidence dans une étude épidémiologique portant sur une cohorte de 16 441 mineurs (Seidler *et al.* 2014). Si un risque accru de cancers du rein et de la vessie a été observé chez les individus exposés le plus longtemps, celui-ci n'était pas significatif. Les auteurs précisent que tous les travailleurs de la mine ont été inclus dans l'étude, alors même qu'une partie d'entre eux n'a pas du tout été exposée au DNT et qu'une majorité (92,5 %) n'a pas eu d'exposition cutanée. Ce biais de classement peut avoir entraîné une sous-estimation du risque réel.

Aucune étude chez l'Homme portant sur la cancérogénicité d'un isomère spécifique du DNT n'a été identifiée.

4.6.2 Données chez l'animal

4.6.2.1 2,4-DNT

Plusieurs études menées pour le compte de l'armée américaine ont en effet mis en évidence les effets cancérogènes du 2,4-DNT (Lee *et al.* 1978 ; Ellis *et al.* 1979). Le 2,4-DNT est à l'origine d'effets cancérogènes chez l'animal. En effet, les études de cancérogenèse réalisées chez le rat et la souris indiquent que le 2,4-DNT a induit des tumeurs de diverses localisations. Ainsi, le 2,4-DNT est classé par le CIRC dans le groupe 2A « probablement cancérogène » (IARC 1996).

Dans une étude de 2 ans (National Cancer Institute 1978), du 2,4-DNT (pureté supérieure à 95 %) a été administré dans le régime alimentaire de rats Fischer 344 (n = 50/sexe/dose) et

⁵ Ratio standardisé d'incidence.

de souris B6C3F1 (n = 50/sexe/dose) à des doses de 80 et 200 ppm (rats) et de 80 et 400 ppm (souris). Le groupe témoins étaient composés de 75 rats par sexe et de 50 souris par sexe. Les rats et les souris ont été testés pendant 78 semaines, suivies d'une période d'observation supplémentaire de 13 à 26 semaines. La survie a été adéquate dans tous les groupes et un gain de poids corporel réduit dans les groupes exposés à des doses élevées a été observé. Seules des tumeurs bénignes ont été observées. Le 2,4-DNT a induit une augmentation statistiquement significative des fibromes de la peau et du tissu sous-cutané chez les rats mâles (0/71, 7/49, 13/49) et des fibroadénomes de la glande mammaire chez les rats femelles exposées à de fortes doses (13/71, 12/49, 23/50). Aucune augmentation statistiquement significative de l'incidence des tumeurs malignes n'a été observée chez les souris mâles ou femelles.

L'US EPA cite une étude du Chemical Industry Institute of Toxicology (CIIT 1982) au cours de laquelle des rats F344 (n = 130/sexe/dose) ont été nourris pendant deux ans avec du Tg-DNT (76 % de 2,4-DNT et 19 % de 2,6-DNT) à des concentrations alimentaires quotidiennes de 0, 3,5, 10 et 35 mg.kg pc⁻¹. Tous les rats mâles et femelles du groupe ayant reçu la dose élevée ont été sacrifiés à 55 semaines en raison d'une mortalité sévère. Des études histopathologiques ont été réalisées sur des animaux sacrifiés (n = 20/sexe). L'incidence du carcinome hépatocellulaire était de 100 % chez les rats mâles (20/20) et de 55 % chez les femelles (11/20). Les animaux ayant reçu des doses moyennes et faibles ont été testés pendant 104 semaines. L'incidence du carcinome hépatique chez les mâles à 104 semaines était de 1/61 pour le groupe témoin, 9/70 pour le groupe à faible dose, 22/23 pour le groupe à dose moyenne et 20/20 pour le groupe à forte dose ; l'incidence chez les femelles à 104 semaines était de 0/57 pour le groupe témoin, 0/61 pour le groupe à faible dose, 40/68 pour le groupe à dose moyenne et 11/20 pour le groupe à forte dose. L'incidence des nodules néoplasiques chez les mâles était de 9/61, 11/70, 16/23 et 5/20, et l'incidence chez les femelles était de 5/57, 12/61, 53/68 et 12/20, à 104 semaines pour les groupes témoins, à faible dose, à dose moyenne et à forte dose, respectivement. Des cholangiocarcinomes, probablement dérivés de l'épithélium des voies biliaires, ont également été observés chez trois mâles ayant reçu la dose élevée à 55 semaines et chez deux mâles ayant reçu la dose moyenne à 104 semaines.

Des groupes de souris mâles et femelles CD-1 sevrées ont reçu des régimes alimentaires contenant 0, 100, 700 et 5 000 ppm de 2,4-DNT (2,4-DNT 98,5 % à 99 %, 2,6-DNT 1 % à 1,5 %) pendant 24 mois (Lee *et al.* 1985). Les doses correspondantes sont estimées à 0, 14, 97 et 898 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ chez les mâles et 0, 14, 94 et 911 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ chez les femelles (Tableau 19). Après 12 mois, huit mâles et huit femelles de chaque groupe ont été sacrifiés et autopsiés. Les souris restantes ont été sacrifiées à 24 mois. Le poids corporel des femelles ayant reçu des doses faibles et moyennes ne différait pas de celui des témoins, la prise de poids des mâles ayant reçu la dose moyenne et des souris ayant reçu la dose élevée était inférieure à celle des témoins (d'environ 10 %, 22 % et 35 %). La survie médiane des groupes témoin, à faible dose, à dose moyenne et à dose élevée est de 21, 21, 19 et 9 mois respectivement pour les mâles et 20, 19, 20 et 10 mois pour les femelles. Des tumeurs, décrites comme des adénomes kystiques, des adénomes papillaires kystiques, des carcinomes papillaires kystiques et carcinomes ont été observées dans l'épithélium tubulaire rénal. L'incidence de ces tumeurs chez les mâles était de 0/24 chez les témoins, 6/22 à la dose faible, 16/19 à la dose moyenne et 10/29 à la dose élevée ; 2/8 mâles ayant reçu la dose élevée et examinés après un an présentaient également une tumeur rénale. Une seule des 23 femelles ayant reçu une dose élevée a développé une tumeur rénale à 23 mois (Hong *et al.* 1985) (Tableau 20).

Tableau 19 : Incidence des lésions observées chez les souris exposées au 2,4-DNT par voie orale pendant 24 mois en fonction de la dose (Ellis *et al.* 1979)

	Mâles (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹)				Femelles (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹)			
	0	13,3	96,9	885	0	13,7	93,8	911
Foie								
Carcinome hépatocellulaire	7/33	9/33	8/28	5/40	2/31	1/29	3/31	1/33
Dysplasie	2/33	14/33	12/28	40/40	5/31	3/29	5/31	29/33
Tumeurs rénales	0/33	5/33	18/28	3/40	0/31	0/29	0/31	1/32

Tableau 20 : Incidence des lésions observées chez les souris exposées pendant 12 ou 24 mois au 2,4-DNT par voie orale en fonction de la dose (Hong *et al.* 1985)

	Mâles (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹)				Femelles (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹)			
	0	14	95	898	0	14	95	898
Tumeurs rénales								
12 mois	0/8	0/8	0/8	2/8	0/8	0/8	0/8	0/8
24 mois	0/24	6/22	16/19	10/29	0/23	0/20	0/22	1/23
Dysplasie hépatocellulaire								
12 mois	1/8	1/8	1/8	8/8	0/8	1/8	0/8	5/8
24 mois	1/25	17/25	11/20	31/32	5/23	3/21	5/23	24/25

Des groupes de 38 rats mâles et 38 rats femelles SD sevrés ont reçu des régimes alimentaires contenant 0, 15, 100 et 700 ppm de 2,4-DNT (2,4-DNT 98,5 à 99 % ; 2,6-DNT 1 à 1,5 %) jusqu'à 24 mois. Après 12 mois, huit mâles et huit femelles de chaque groupe ont été sacrifiés et autopsiés. Les autres animaux ont été sacrifiés à l'âge de 24 mois. Les doses correspondantes sont estimées à 0, 0,57, 3,9 et 34 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ chez les mâles et 0, 0,71, 5,1 et 45 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ chez les femelles. La survie des rats exposés à faible et moyenne dose n'a pas différé de celle des témoins, alors qu'à la plus forte dose, tous les mâles et toutes les femelles sauf une sont morts avant la fin de l'étude, la moitié de la mortalité ayant été atteinte entre 19 et 20 mois pour chaque sexe. À 12 mois, des nodules néoplasiques du foie ont été diagnostiqués chez 1/8 des mâles ayant reçu une faible dose, 6/7 des mâles ayant reçu une forte dose et 7/8 des femelles ayant reçu une forte dose, avec un carcinome hépatocellulaire chez 1/8 des femelles ayant reçu une forte dose. Aucun carcinome n'a été trouvé dans les autres groupes. Chez les rats ayant survécu plus de 12 mois, l'incidence des tumeurs retrouvées est indiquée dans le Tableau 22 (Lee *et al.* 1985).

Tableau 21 : Incidence des lésions hépatiques observées chez les rats exposés au 2,4-DNT par voie orale pendant 12 mois en fonction de la dose (Lee *et al.* 1985)

	Mâles (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹)				Femelles (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹)			
	0	0,57	3,9	34	0	0,71	5,1	45
Nodules néoplasiques	0/7	1/8	0/8	6/7	0/8	0/8	0/8	7/8
Carcinome hépatocellulaire	0/7	0/8	0/8	0/7	0/8	0/8	0/8	1/8

Aux doses les plus élevées, soit 34 et 45 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, une augmentation significative de l'incidence des tumeurs des glandes mammaires (adénome, papillome, fibroadénome,

fibrome, adénocarcinome, carcinome) chez les femelles et de la peau (tumeurs mésoenchymateuses et épithéliales sous-cutanées, fibrome, lipome, carcinome basocellulaire, sarcome, fibrosarcome, carcinosarcome et carcinome épidermoïde) chez les mâles a été observée après une exposition supérieure à 12 mois (Tableau 22). Cependant, cette association disparaît lorsque l'on s'intéresse uniquement aux tumeurs malignes.

Tableau 22 : Incidence des lésions observées chez les rats exposés au 2,4-DNT par voie orale pendant plus de 12 mois (Lee *et al.* 1985)

	Mâles (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹)				Femelles (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹)			
	0	0,57	3,9	34	0	0,71	5,1	45
Nodules néoplasiques hépatiques	1/25	2/27	1/19	2/27	0/23	2/28	2/26	5/25
Carcinome hépatocellulaire	1/25	0/27	1/19	6/27	0/23	0/28	1/26	10/25
Tumeurs mammaires	0/25	0/27	0/19	2/27	11/23	1/28	16/26	21/25
Tumeurs de la peau	2/25	4/27	3/19	15/27	1/23	2/28	0/26	4/25
Adénome hypophysaire	9/20	13/22	7/13	2/19	18/23	21/25	20/24	2/15

4.6.2.2 2,6-DNT

Des groupes de 28 rats mâles Fischer 344, ont reçu du 2,6-DNT (pureté non spécifiée) à des doses de 0, 7 et 14 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pendant 52 semaines (Leonard *et al.* 1987). À la fin de l'étude, les gains de poids corporel des groupes exposés à la dose faible et à la dose élevée étaient inférieurs d'environ 18 % et 32 % à ceux des groupes témoins. Aucune mort précoce n'a été constatée. Les foies et les poumons de tous les rats ont fait l'objet d'une évaluation histopathologique. La dégénérescence et la vacuolisation des hépatocytes étaient apparentes chez la majorité des animaux traités ; des foyers acidophiles et basophiles ont été signalés chez plus de 90 % des rats traités. Aucune tumeur hépatique n'a été observée dans le groupe témoin. Des nodules néoplasiques ont été trouvés chez 18/20 rats à la dose faible et 15/19 à la dose élevée. Des carcinomes hépatocellulaires, décrits comme trabéculaires, ont été observés chez 17/20 rats ayant reçu la faible dose et 19/19 rats ayant reçu la forte dose, et une tumeur décrite comme un adénocarcinome a été observée chez un rat ayant reçu la plus faible dose. Des cholangiocarcinomes sont apparus chez 2/20 rats ayant reçu la faible dose. Les tumeurs du foie ont métastasé au poumon chez 3/20 rats à faible dose et 11/19 à forte dose.

4.7 Populations sensibles

Les personnes présentant un déficit enzymatique érythrocytaire, en particulier un déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase, répandu au niveau du bassin méditerranéen, sont *a priori* plus sensibles aux effets hémolytiques du DNT.

5 Recueil des valeurs toxicologiques de référence

5.1 VTR court terme par voie orale

L'ATSDR a construit en 2016 des *Minimal Risk Level* (MRL) aigus pour les 6 isomères du DNT : 0,9 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour le 2,3-DNT, 0,05 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour le 2,4-DNT, 0,007 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour le 2,5-DNT, 0,09 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour le 2,6-DNT, 0,03 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour le 3,4-DNT et 0,03 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour le 3,5-DNT (Tableau 23).

Pour le 2,3-DNT, le 2,5-DNT, le 3,4-DNT et le 3,5-DNT, le MRL est basé sur l'étude de Lent *et al.* de 2012 au cours de laquelle des rats SD ont été exposés par gavage pendant 14 jours (cf. chapitre 4.2.2.2). Le poids corporel et celui des organes, les signes cliniques généraux, les paramètres hématologiques et biologiques ont été évalués. Un examen microscopique des organes dont le poids était anormal a été réalisé.

L'absence d'examen histopathologique des rats exposés à des doses inférieures à 275 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ de 2,3-DNT n'a pas permis de déterminer de NOAEL, ni de modéliser de benchmark dose (BMD) pour cet isomère. Un LOAEL a donc été déterminé, considérant comme effet critique la dilatation tubulaire rénale et l'hématopoïèse extramédullaire. Un MRL a été dérivé en appliquant un facteur d'incertitude de 3000 prenant en compte la variabilité inter-espèces (FI_A = 10), la variabilité interindividuelle (FI_H = 10), le fait de se baser sur un LOAEL (FI_L = 10) et les données limitées (FI_D = 3).

Pour le 2,5-DNT, l'hématopoïèse extramédullaire légère à modérée a été retenue comme effet critique. Une BMD a pu être modélisée à partir des données avec un BMR (benchmark response) correspondant à une augmentation de 10 % de l'incidence. Le modèle *multistage (1-degree)*, donnant la plus petite BMDL₁₀ (limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % de la BMD), a été retenu. Un facteur d'incertitude de 300 a été appliqué, afin de prendre en compte la variabilité inter-espèces (FI_A = 10), la variabilité interindividuelle (FI_H = 10) et les données limitées (FI_D = 3).

À partir du même effet critique, un MRL a été dérivé pour le 3,4-DNT à partir d'une BMDL₁₀ de 8,05 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ déterminée par le modèle *LogLogistic*, à laquelle a été ajouté un facteur de 300, prenant en compte les mêmes facteurs d'incertitude que ceux choisis pour la construction de la valeur du 2,5-DNT.

Le MRL du 3,5-DNT n'a pu être dérivé d'une BMDL, car l'incidence des lésions testiculaires était de 0/6 dans le groupe contrôle et de 6/6 au LOAEL (19 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹). Un NOAEL de 10 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ a donc été pris comme point de départ. Un facteur d'incertitude de 300 a été appliqué, prenant en compte la variabilité inter-espèces (FI_A = 10), la variabilité interindividuelle (FI_H = 10) et le peu de données disponibles (FI_D = 3).

Pour le 2,4-DNT, l'ATSDR s'est appuyé sur une étude au cours de laquelle 4 groupes de chiens Beagle ont été exposés pendant 13 semaines à des doses de 0, 1, 5 ou 25 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (4 femelles et 4 mâles par groupe) (Ellis *et al.* 1985). La substance testée contenait 98,5 à 99 % de 2,4-DNT et 1 à 1,5 % de 2,6-DNT. Au 14^e jour, les signes cliniques et comportementaux de toxicité ont été observés dans le groupe exposé à la plus forte dose. Une femelle et 3 mâles ont présenté le même signe de neurotoxicité : la perte de contrôle des pattes arrière. Les examens histopathologiques réalisés à 4 et 13 semaines ont montré des lésions du système nerveux central chez 6 des 8 chiens examinés. Les effets ayant seulement été observés chez des animaux du groupe le plus exposé, la construction d'une BMD n'a pas

été possible et le MRL a été dérivé à partir du NOAEL, soit $5 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$. La variabilité inter-espèces ($FI_A = 10$) et la variabilité interindividuelle ($FI_H = 10$) ont été prises en compte en ajoutant un facteur d'incertitude de 100. La quantité de données recensée et l'existence d'études sur différents aspects toxicologiques ont été jugées suffisantes pour ne pas appliquer de FI_D .

Le MRL du 2,6-DNT a été dérivé à partir d'une étude similaire, mais avec des doses testées de 0, 4, 20 et 100 $\text{mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ (Lee *et al.* 1976). Une relation dose-réponse a été observée pour la diminution du compte d'érythrocytes, avec des baisses moyennes respectives de 10, 16 et 67 % par rapport au groupe contrôle. La $BMDL_{1SD}$ calculée par le modèle linéaire ($9,31 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$) étant la plus basse parmi celles des modèles les plus ajustés aux données, elle a été retenue comme point de départ pour dériver la valeur. Un facteur d'incertitude de 100 prenant en compte la variabilité inter-espèces ($FI_A = 10$) et la variabilité interindividuelle ($FI_H = 10$) a été appliqué. De la même manière que pour le 2,4-DNT, l'application d'un FI_D n'a pas été jugée pertinente.

Tableau 23 : VTR court terme par voie orale pour les isomères du dinitrotoluène

		2,3-DNT	2,4-DNT	2,5-DNT	2,6-DNT	3,4-DNT	3,5-DNT
VR	Organisme	ATSDR					
	Année	2016					
	Nom	MRL	MRL	MRL	MRL	MRL	MRL
	Valeur (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)	0,09	0,05	0,007	0,09	0,03	0,03
Population cible		Population générale	Population générale	Population générale	Population générale	Population générale	Population générale
Effet critique		Dilatation tubulaire rénale, hématoïèse extramédullaire	Neurologique : perte de contrôle des membres postérieurs	Hématopoïèse extramédullaire légère à modérée	Baisse du compte des hématies	Hématopoïèse extramédullaire, hyperplasie lymphoïde	Effets testiculaires : réduction de la taille et du poids, dégénérescence tubulaire, cellules géantes polynucléées
Étude clé	Référence	Lent <i>et al.</i> 2012	Ellis <i>et al.</i> 1985	Lent <i>et al.</i> 2012	Lee <i>et al.</i> 1976	Lent <i>et al.</i> 2012	Lent <i>et al.</i> 2012
	Espèce	Rat SD	Chien Beagle	Rat SD	Chien Beagle	Rat SD	Rat SD
	Exposition	14 jours, gavage	14 jours, gélules	14 jours, gavage	14 jours, gélules	14 jours, gavage	14 jours, gavage
Point de départ (PoD) (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)		LOAEL = 275	NOAEL = 5 (LOAEL = 25)	BMDL ₁₀ = 2,05*	BMDL _{1SD} = 9,31*	BMDL ₁₀ = 8,05*	NOAEL = 10 (LOAEL = 19)
Facteurs d'incertitude (FI)		3000 FI _A : 10, FI _H : 10, FI _L : 10, FI _D : 3	100 FI _A : 10, FI _H : 10	300 FI _A : 10, FI _H : 10, FI _D : 3	100 FI _A : 10, FI _H : 10	300 FI _A : 10, FI _H : 10, FI _D : 3	300 FI _A : 10, FI _H : 10, FI _D : 3

* Logiciel utilisé : BMDS (version 2.1)

5.2 VTR moyen terme par voie orale

Seules des VTR par voie orale à moyen terme ont été construites pour les isomères 2,4-DNT et 2,6-DNT, par l'US EPA en 2008 afin de dériver des valeurs pour les EDCH (« *longer-term Health Advisory* ») (US EPA 2008) et par l'ATSDR en 2016 (ATSDR 2016) (Tableau 24). Concernant les autres isomères, aucune VTR n'est disponible, seules deux études ayant été réalisées et concernant des expositions de 1 et 14 jours (Vernot *et al.* 1977; Lent *et al.* 2012b), ce qui a vraisemblablement été jugé insuffisant pour construire des valeurs de référence à moyen terme.

5.2.1 2,4-DNT

En 2008, l'US EPA s'est basée sur une étude chez des rats mâles et femelles exposés à des doses de 0, 34, 93 ou 266 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ et 0, 38, 108 ou 145 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ respectivement, pendant 13 semaines (Lee *et al.* 1976). Pour chacun des sexes, des LOAEL de 34 et 38 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ ont été déterminés pour une diminution de la prise de poids et de la consommation alimentaire. La valeur pour les mâles, plus basse, a été conservée et des facteurs d'incertitude ont été ajoutés afin de prendre en compte la variabilité inter-espèces, la variabilité interindividuelle et l'utilisation d'un LOAEL (FI_A = 10, FI_H = 10 et FI_L = 10). Les auteurs précisent que l'étude réalisée sur des chiens Beagle pendant la même durée n'avait pas été retenue car le nombre d'animaux par groupe était jugé insuffisant (Ellis *et al.* 1985).

En 2016, l'ATSDR a construit un MRL moyen terme à partir de la même étude que celle utilisée pour le court terme (Ellis *et al.* 1985), mais à partir des données obtenues après 9 mois d'exposition de groupes de 12 chiens Beagle (6 femelles et 6 mâles) à des doses de 0, 0,2, 1,5 ou 10 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. Des effets hématologiques (méthémoglobine, corps de Heinz, diminution du compte des érythrocytes, de l'hématocrite, anémie et réticulocytose) ont été observés à 3, 6 et 9 mois, mais de plus forte intensité à cette dernière échéance. Plusieurs effets ont été retenus pour construire des BMD : réticulocytose, diminution de l'hémoglobine et de l'hématocrite. La BMDL_{1SD} la plus basse parmi celles obtenues avec des modèles suffisamment ajustés aux données a été retenue, soit 0,67 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour la baisse de l'hématocrite (modèle exponentiel 5). La BMDL_{1SD} la plus faible pour la réticulocytose était de 5,64 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (modèle polynomial du 3^e degré) et de 3,66 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (modèle exponentiel 2) pour la baisse de l'hémoglobine. Des facteurs d'incertitude (FI_A = 10 et FI_H = 10) ont été appliqués afin de prendre en compte les variabilité inter-espèces et interindividuelle (ATSDR 2016).

5.2.2 2,6-DNT

L'ATSDR a dérivé un MRL moyen terme à partir d'une étude pendant laquelle des groupes de 8 chiens Beagle (n = 4/sexe) ont été exposés pendant 13 semaines à des doses de 0, 4, 20 ou 100 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ à l'aide de gélules contenant la substance (Lee *et al.* 1976). L'effet retenu a été l'érythropoïèse extramédullaire observée dans la rate de tous les animaux examinés à la fin de la période d'exposition. Ainsi, seul un LOAEL a été déterminé et correspond à la dose testée la plus faible, soit 4 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. À ce point de départ, ont été appliqués des facteurs d'incertitude permettant de prendre en compte la variabilité inter-espèces (FI_A = 10), la variabilité interindividuelle (FI_H = 10) et le fait de se baser sur un LOAEL (FI_L = 10) (ATSDR 2016).

En 2008, l'US EPA s'est appuyé sur la même étude et a défini un LOAEL à $20 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ et un NOAEL à $4 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ correspondant à une perte de poids, des effets hématologiques et neurologiques, et des lésions histopathologiques aux niveaux hépatique et rénal (Lee *et al.* 1976). Des facteurs d'incertitude ont été appliqués pour tenir compte de la variabilité inter-espèces et interindividuelle ($FI_A = 10$ et $FI_H = 10$), conduisant à une RfD (*reference dose*) de $0,04 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ (US EPA 2008).

En 2013, l'US EPA a proposé une RfD provisoire de $0,003 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ basée cette fois sur l'apparition d'une hématoïèse extramédullaire (US EPA 2013). La dose la plus faible testée, $4 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$, a été identifiée comme LOAEL chez l'animal. Cette valeur a été ajustée sur le poids afin d'être transposée à l'Homme (ajustement allométrique) et a ainsi été calculée à $3 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$. Un facteur d'incertitude de 1000 a été appliqué, prenant en compte la variabilité inter-espèces ($FI_A = 3$), la variabilité interindividuelle ($FI_H = 10$), le fait de se baser sur un LOAEL ($FI_L = 3$) et le manque de données ($FI_D = 10$) (US EPA 2013).

Tableau 24 : VTR moyen terme à seuil par voie orale pour le 2,4-DNT et le 2,6-DNT

		2,4-DNT		2,6-DNT		
VR	Organisme	ATSDR	US EPA	ATSDR	US EPA	US EPA
	Année	2016	2008	2016	2008	2013
	Nom	MRL		MRL		RfD provisoire
	Valeur	0,007 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	0,034 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	0,004 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	0,04 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	0,003 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹
Population cible		Population générale	Population générale	Population générale	Population générale	Population générale
Effet critique		Effets Hématopoïétiques (Réticulocytose, diminution de l'hémoglobine et de l'hématocrite, méthémoglobinémie et corps de Heinz)	Diminution du gain de poids corporel et de la consommation alimentaire	Hématologique : érythropoïèse extramédullaire	Neurotoxicité, corps de Heinz, hyperplasie du canal biliaire, lésions histopathologiques au niveau du foie et des reins, perte de poids	Érythropoïèse extramédullaire
Étude clé	Référence	Ellis <i>et al.</i> 1985	Lee <i>et al.</i> 1978	Lee <i>et al.</i> 1976	Lee <i>et al.</i> 1976	Lee <i>et al.</i> 1976
	Espèce	Chien Beagle femelle	Rat mâle	Chien Beagle	Chien Beagle	Chien Beagle
	Exposition	Orale (gélules), 9 mois	Orale, 13 semaines	Orale (gélules), 13 semaines	Orale (gélules), 13 semaines	Orale (gélules), 13 semaines
Point de départ (PoD)		BMDL _{1SD} = 0,67 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour la diminution de l'hémoglobine (BMDL la plus faible)	LOAEL = 34 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	LOAEL = 4 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	NOAEL = 4 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ (LOAEL = 20 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹)	LOAEL = 4 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹
Ajustement allométrique						LOAEL _{HED} = LOAEL × 0,63 = 3 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹
Facteurs d'incertitude (FI)		100 FI _A : 10, FI _H : 10	1000 FI _A : 10, FI _H : 10, FI _L : 10	1000 FI _A : 10, FI _H : 10, FI _L : 10	100 FI _A : 10, FI _H : 10	1 000 FI _A : 3, FI _H : 10, FI _L : 3, FI _D : 10

5.3 VTR long terme par voie orale

5.3.1 VTR à seuil

Des VTR par voie orale à moyen terme n'ont été construites que pour les isomères 2,4-DNT et 2,6-DNT. Concernant les autres isomères, aucune VTR n'est disponible.

5.3.1.1 2,4-DNT

Deux organismes ont élaboré des VTR à seuil pour le 2,4-DNT : l'US EPA en 2008 et l'ATSDR en 2016.

L'US EPA a fixé une RfD de $2 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ sur la base d'une étude de deux ans réalisée chez le chien Beagle exposé par voie orale en retenant comme effet critique des effets hématologiques (méthémoglobinémie, anémie) (Ellis *et al.* 1979). Cette valeur a été établie à partir d'un NOAEL de $0,2 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ auquel a été appliqué un facteur d'incertitude de 100 pour la variabilité inter-espèces ($FI_A = 10$) et pour la variabilité interindividuelle ($FI_H = 10$) (US EPA 2008).

En 2016, l'ATSDR a défini un MRL de $1 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ fondé sur la même étude, mais a pris en compte l'exposition pendant douze mois chez les femelles. L'effet critique retenu, la diminution du compte des hématies, a été préféré aux effets neurologiques, pour lesquels les observations ont été jugées moins robustes. Tous les modèles à variables continues disponibles dans la version 2.1 de BDMS ont été ajustés aux données. La BMD et la BMDL à 95 % ont été estimées à partir d'un BMR correspondant à un changement d'un écart-type par rapport à la moyenne des témoins. Le modèle exponentiel 4, donnant la BMDL_{1SD} la plus faible ($0,12 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$) parmi les modèles ajustés aux données, a été retenu. La valeur a été divisée par un facteur d'incertitude de 100, 10 pour la variabilité inter-espèces (FI_A) et 10 pour la variabilité interindividuelle (FI_H) (ATSDR 2016).

Tableau 25 : VTR long terme à seuil par voie orale pour le 2,4-DNT

VR	Organisme	US EPA	ATSDR
	Année	2008	2016
	Nom	RfD	MRL
	Valeur	$0,002 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$	$0,001 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$
Population cible		Population générale	Population générale
Effet critique		Neurotoxicité, présence de corps de Heinz et hyperplasie des voies biliaires	Diminution du compte des hématies
Étude clé	Référence	Ellis <i>et al.</i> 1979	Ellis <i>et al.</i> 1979
	Population de l'étude ou espèce	Chien Beagle mâle	Chien Beagle femelle
	Exposition (durée, voie)	Orale (gélules), 24 mois	Orale (gélules), 12 mois
Point de départ (PoD)		NOAEL = $0,2 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ (LOAEL = $1,5 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$)	BMDL _{1SD} = $0,12 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$
Facteurs d'incertitude (FI)		100 $FI_A : 10, FI_H : 10$	100 $FI_A : 10, FI_H : 10$
Niveau de confiance		Élevé	/

5.3.1.2 2,6-DNT

En 2008, dans l'objectif de proposer une valeur guide pour l'eau destinée à la consommation humaine, l'US EPA a dérivé une RfD de 0,001 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ fondée sur différents effets observés, principalement neurologiques, dans une étude exposant des chiens Beagle pendant 13 semaines par voie orale (gélules) à des concentrations de 2,6-DNT de 0, 4, 20 ou 100 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (Lee *et al.* 1976). Le point de départ est un NOAEL défini à 4 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (LOAEL = 20 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) pour les effets critiques suivants : neurotoxicité, présence de corps de Heinz, hyperplasie biliaire, lésions hépatiques et rénales. Un facteur d'incertitude de 3000 a été appliqué, prenant en compte la variabilité inter-espèces (FI_A = 10), la variabilité interindividuelle (FI_H = 10), l'exposition à moyen terme pour déterminer une toxicité chronique (FI_S = 10) et le manque relatif de données (FI_D = 3) (US EPA 2008).

Dans le cadre du « *Superfund Program* », l'US EPA a fixé en 2013 une VTR provisoire (PPRTV : *Provisional Peer-Reviewed Toxicity Value*) de 0,3 µg.kg⁻¹.j⁻¹. Celle-ci a été fixée sur la base de la même étude qu'en 2008 en retenant comme effet critique des effets hématologiques (érythropoïèse extramédullaire) (Lee *et al.* 1976). L'US EPA s'est basé sur un LOAEL de 4 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (équivalent à 3 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ chez l'Homme après ajustement allométrique). Un facteur d'incertitude de 10 000 a été appliqué au LOAEL_{HED} : 3 pour la variabilité inter-espèces (FI_A), 10 pour la variabilité interindividuelle (FI_H), 3 pour prendre en compte l'utilisation d'un LOAEL (FI_L), 10 pour tenir compte de la faible durée de l'étude au regard d'une exposition chronique (FI_S) et 10 pour tenir compte de l'absence d'étude de toxicité portant sur le développement (FI_D) (US EPA 2013).

Tableau 26 : VTR long terme à seuil par voie orale pour le 2,6-DNT

VR	Organisme	US EPA	US EPA
	Année	2008	2013
	Nom	RfD	RfD provisoire
	Valeur	0,001 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	0,0003 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹
Population cible		Population générale	Population générale
Effet critique		Neurotoxicité, corps de Heinz, hyperplasie du canal biliaire, lésions histopathologiques du foie et des reins	Érythropoïèse extramédullaire
Étude clé	Référence	Lee <i>et al.</i> 1976	Lee <i>et al.</i> 1976
	Population de l'étude ou espèce	Chien Beagle	Chien Beagle
	Exposition (durée, voie)	Orale (gélules), 13 semaines	Orale (gélules), 13 semaines
Point de départ (PoD)		NOAEL = 4 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ (LOAEL = 20 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹)	LOAEL = 4 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹
Ajustement allométrique		/	LOAEL × 0,63 = 3 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹
Facteurs d'incertitude (FI)		3000 FI _A : 10, FI _H : 10, FI _S : 10, FI _D : 3	10 000 FI _A : 3, FI _H : 10, FI _L : 3, FI _S : 10, FI _D : 10

5.3.2 VTR sans seuil pour les effets cancérogènes

5.3.2.1 2,4-DNT

En 2008, l'US EPA a dérivé un excès de risque unitaire (ERU) pour le mélange de 2,4-DNT et de 2,6-DNT à partir des données d'incidence combinée des tumeurs mammaires (adénomes, fibroadénomes, fibromes, adénocarcinomes/carcinomes) chez les rats femelles issues de l'études d'Ellis *et al.* de 1979. Dans cette étude de cancérogenèse décrite dans le chapitre 4.6, les animaux ont été exposés à un mélange contenant 98 % de 2,4-DNT et 2 % de 2,6-DNT. À partir des données d'incidence présentées dans le Tableau 27, l'US EPA a dérivé une BMD en utilisant le logiciel Benchmark Dose Software (BMDS, Version 1.3.2). Pour un BMR de 0,1, la BMD était de 0,25 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ et la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % (BMDL) de 0,15 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (*multistage model*). À partir de cette BMDL, un ERU 0,667 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ a été dérivé dans l'objectif de proposer une valeur guide dans l'eau de boisson.

Tableau 27 : Données d'incidence des tumeurs mammaires chez les rats femelles issues de l'étude d'Ellis *et al.* de 1979

Doses expérimentales		Poids (kg)	Doses équivalentes humaines**	Incidence combinée (nombre d'animaux présentant une tumeur/nombre d'animaux examiné)
ppm	mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ *			
0	0	0,425	0	11/23
15	0,71	0,425	0,129	12/35
100	5,10	0,410	0,927	17/27
700	45,00	0,325	7,557	34/35

* Conversion des ppm en mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ en utilisant l'estimation de Lehmann, où 1 ppm = 0,05 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour les rats âgés.

** Doses équivalentes humaines = doses expérimentales × $\sqrt[3]{(\text{poids}_{\text{Homme}}/\text{poids}_{\text{moyen rat}})}$ en considérant un poids de 70 kg pour l'Homme et le poids moyen pour l'animal. L'US EPA a utilisé le poids moyen des rats femelles de chaque dose et non un poids moyen pour l'ensemble des doses du fait des différences des poids moyens entre chaque dose.

En 2005, l'OEHHA a repris l'ERU de 0,31 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ dérivé par l'US EPA en 1980 pour le 2,4-DNT sur la base d'une augmentation de l'incidence combinée de tumeurs du foie (carcinomes hépatocellulaires, nodules néoplasiques) et de la glande mammaire (adénomes, fibroadénomes, fibromes, adénocarcinomes/carcinomes) chez des rats femelles exposées 24 mois observée dans l'étude de Lee *et al.* de 1978 (Tableau 28) (OEHHA 2005). Après modélisation multi-étapes linéarisée (modèle LMS), l'ERU_{animal} était de 0,058 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹. Celui-ci a été converti en un ERU_{Homme} sur la base de l'équation suivante (ajustement allométrique) :

$$\text{ERU}_{\text{Homme}} = \text{ERU}_{\text{animal}} \times (\text{poids}_{\text{Homme}}/\text{poids}_{\text{animal}})^{1/3} = 0,31 \text{ (mg.kg pc}^{-1}\text{.j}^{-1}\text{)}^{-1}$$

Avec poids_{Animal} : poids corporel supposé pour l'espèce testée, ici 0,464 kg et poids_{Homme} : poids corporel supposé de l'Homme, soit 70 kg.

Tableau 28 : Dérivation à partir de l'étude de Lee *et al.* de 1978 pour les rats femelles

Doses expérimentales (ppm)*	Doses transformées* (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹)	Incidence			ERU _{animal} (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹) ⁻¹	ERU _{Homme} (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹) ⁻¹
		Foie	Glande mammaire	Combinée		
0	0	0/31	11/31	11/31	0,058	0,31
15	0,71	3/43	12/43	13/43		
100	3,9	3/35	18/35	18/35		
700	34	30/42	34/43	35/43		

* Ces doses sont différentes de celles citées dans l'US EPA, à savoir 0 ; 0,75 ; 5,0 et 35,0 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.

L'Anses a constaté plusieurs erreurs dans les informations relatives aux travaux de l'US EPA rapportées par l'OEHHA :

- la référence citée correspond à une étude 13 semaines et non à une étude de cancérogenèse,
- la valeur de l'ERU élaborée par l'US EPA en 1980 rapportée par l'OEHHA est de 3,6965.10⁻² (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ et non de 0,31 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹.

Tableau 29 : VTR long terme sans seuil par voie orale pour le 2,4-DNT

VR	Organisme	OEHHA	US EPA
	Année	2005	2008
	Nom	Oral slope factor	Oral slope factor
	Valeur	0,31 (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹) ⁻¹	0,667 (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹) ⁻¹
Population cible		Population générale	Population générale
Effet critique		Carcinome hépatocellulaire, tumeurs mammaires	Tumeurs de la glande mammaire
Étude clé	Référence	Lee <i>et al.</i> 1978	Ellis <i>et al.</i> 1979
	Espèce	Rat SD	Rat SD femelle
	Exposition (voie, durée)	Orale (<i>ad lib</i>), 24 mois	Orale (alimentation), 24 mois
Construction		Approche multi-étapes linéarisée	Modélisation BMD après ajustement allométrique des doses expérimentales (BMDS v1.3.2 ; <i>multistage model</i> ; BMR : 0,1) BMD = 0,25 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ BMDL _{95%} = 0,15 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹

5.3.2.2 2,6-DNT

En 1987, l'US EPA a considéré que les données sur 2,6-DNT n'étaient pas suffisantes pour dériver une VTR sans seuil bien que cet isomère semble présenter le plus fort potentiel cancérogène (US EPA, 1987). En 2013, l'US EPA a proposé un *oral slope factor* provisoire de 1,5 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ sur la base de l'étude de Leonard *et al.* (1987) (Tableau 30). Cette étude de bonne qualité a mis en évidence une augmentation de l'incidence des carcinomes hépatocellulaires chez les rats mâles (52 semaines, 28 rats par groupe de dose).

Tableau 30 : VTR long terme sans seuil par voie orale pour le 2,6-DNT

VR	Organisme	US EPA
	Année	2013
	Nom	<i>Provisional oral slope factor</i>
	Valeur	1,5 (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹) ⁻¹
Population cible		Population générale
Effet critique		Carcinome hépatocellulaire
Étude clé	Référence	Leonard <i>et al.</i> 1987
	Espèce	Rat SD mâle
	Exposition (voie, durée)	Orale (alimentation), 52 semaines
Construction		Modélisation BMD après ajustement allométrique des doses expérimentales (BMDS v2.1.2 ; <i>multistage-cancer model</i> ; BMR : 0,1) BMD = 2,7 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ BMDL _{95%} = 0,25 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹

L'étude de Goldsworthy *et al.* de 1986 n'a pas été retenue comme étude clé car les effets cancérigènes rapportés étaient renforcés par la teneur en pectine de l'alimentation et n'étaient pas uniquement liés au 2,6-DNT pur⁶. Les carcinomes hépatocellulaires et les nodules néoplasiques n'ont été observés que chez les rats nourris avec du 2,6-DNT dans des régimes à haute teneur en pectine (NIH-2,6-DNT). Ainsi, les incidences de tumeurs hépatiques rapportées ne peuvent pas être utilisées pour dériver un *oral slope factor* provisoire pour le 2,6-DNT. L'étude de Stoner *et al.* de 1984 n'a également pas été retenue comme étude clé car de durée insuffisante (12 semaines) pour déterminer les effets cancérigènes.

À partir des données d'incidence de carcinomes hépatocellulaires chez les rats mâles exposés par voie orale pendant 1 an (Leonard *et al.* 1987) (Tableau 31), une modélisation BMD a été effectuée avec le logiciel BMDS (version 2.1.2) en considérant un BMR de 10 % pour aboutir à une BMD₁₀ de 2,7 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ et une BMDL₁₀ de 0,25 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (modèle *multistage-cancer*).

Tableau 31 : Données d'incidence de carcinomes hépatocellulaires chez les rats mâles exposés par voie orale pendant 1 an (Leonard *et al.*, 1987)

Dose _{ADJ} (mg.kg pc ⁻¹ .h ⁻¹)	Nombre d'animaux	Incidence de carcinomes hépatocellulaires
0	20	0
7	20	17*
14	19	19*

*p < 0,001 selon le test exact de Fisher réalisé par l'US EPA.

Un ajustement allométrique a été réalisé pour convertir la BMDL₁₀ en dose équivalente humaine (HED) en utilisant la formule suivante :

$$\text{BMDL}_{10 \text{ HED}} = \text{BMDL}_{10} \times \frac{\text{poids}_{\text{animal}}^{1/4}}{\text{poids}_{\text{Homme}}^{1/4}} = 0,068 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$$

Avec poids_{animal} = 0,376 kg (poids corporel moyen dans le groupe de rat mâle exposé à la plus faible dose à la semaine 104) et poids_{Homme} = 70 kg

⁶ Dans cette étude, le 2,6-DNT a été administré dans des régimes alimentaires dont la teneur en pectine variait, ce qui peut favoriser ou renforcer la cancérogenèse induite par le 2,6-DNT.

Cette BMDL_{10 HED} a ensuite été utilisée pour dériver un *oral slope factor* provisoire comme suit :

$$\text{Provisional oral slope factor} = \frac{\text{BMR}}{\text{BMDL}_{10 \text{ HED}}} = \frac{0,1}{\text{BMDL}_{10 \text{ HED}}} = \frac{0,1}{0,068} = 1,5 \text{ (mg.kg pc}^{-1}\text{.j}^{-1}\text{)}^{-1}$$

À noter que le rapport de l'US EPA de 2013 sur le 2,6-DNT est toujours sous forme provisoire.

5.3.2.3 Tg-DNT

En 2013, l'US EPA a considéré qu'il n'était pas possible de dériver un *oral slope factor* provisoire pour le Tg-DNT en l'absence d'étude évaluée par des pairs. Cependant, l'US EPA a fourni un *screening provisional oral slope factor* de 0,45 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ basée sur une étude de cancérogénicité non publiée (CIIT 1982).

Il existe deux études de cancérogénicité par voie orale chez le rat : celle menée par Leonard *et al.* de 1987 et celle conduite par le Chemical Industry Institute of Toxicology (CIIT, 1982). Dans l'étude de Leonard *et al.* de 1987, une augmentation de l'incidence des tumeurs hépatocellulaires était observée chez les rats mâles exposés 1 an à 35 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ de Tg-DNT (une seule dose testée). Dans l'étude conduite par le CIIT de 1982, une augmentation significative de l'incidence des carcinomes hépatocellulaires à la 104^e semaine était observée aussi bien chez les mâles (21/91) que chez les femelles (40/59). Une augmentation du nombre d'animaux présentant des nodules néoplasiques hépatiques, des fibroadénomes mammaires et des fibromes sous-cutanés était également observée chez les mâles à la semaine 104.

L'US EPA a réalisé plusieurs modélisations BMD à partir des données d'incidence de carcinomes hépatocellulaires⁷, de nodules néoplasiques hépatiques, de fibroadénomes mammaires et de fibromes sous-cutanés chez le rat mâle en utilisant le logiciel BMD5 (version 2.2.21 ; modèle *multistage-cancer*).

Tableau 32 : Données d'incidence chez les rats mâles à la 104^e semaine issues de l'étude de CIIT de 1982, BMD/BMDL et *cancer slope factor* associés chez l'animal (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)

Dose (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹)	Incidence*			BMD ₁₀	BMDL ₁₀	Cancer slope factor
	0	3,51	14			
Nombre total d'animaux	61	70	23			
Carcinomes hépatocellulaires	1 (2)	9 (13)**	21 (91)**	3,04	2,15	0,047
Nodules néoplasiques hépatiques	9 (15)	11 (16)	15 (65)**	4,86	2,69	0,037
Carcinomes hépatocellulaires + nodules néoplasiques	10 (16)	19 (27)	23 (100)**	2,42	1,68	0,060
Fibroadénomes mammaires	3 (5)	7 (10)	5 (22)**	7,37	3,73	0,027
Fibromes sous-cutanés	5 (8)	14 (20)	14 (61)**	2,01	1,38	0,072
Tumeurs combinées	10	19	23	1,20	0,852	

* Nombre d'animaux (% d'animaux présentant la lésion ou l'effet) ; % calculé par l'US EPA ;

** Statistiquement différent du témoin, p < 0,05.

⁷ Les données d'incidence chez les rats mâles ont été retenues car plus élevées que chez les femelles.

Le traitement par le Tg-DNT entraînant plusieurs types de tumeurs chez les rats mâles dans trois tissus différents (CIIT 1982), l'*oral slope factor* global a été dérivé à partir des données d'incidence chez les mâles pour le carcinome hépatocellulaire combiné et/ou les nodules néoplasiques, les fibroadénomes mammaires et les fibromes sous-cutanés en supposant que les différents types de tumeurs sont indépendants l'un de l'autre. L'incidence globale des tumeurs a été ajustée (*MS_Combo multiple tumor model*). À partir de ces données, une BMDL₁₀ de 0,852 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ a été obtenue. Un ajustement allométrique a été réalisé comme suit :

$$\text{PoD}_{\text{HED}} = \text{BMDL}_{10} \times \frac{\text{poids}_{\text{animal}}^{1/4}}{\text{poids}_{\text{Homme}}^{1/4}} = 0,224 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$$

Avec poids_{animal} = 0,333 kg (poids corporel moyen dans le groupe de rats mâles exposé à la plus faible dose à la semaine 104) et poids_{Homme} = 70 kg.

Cette BMDL_{10 HED} a ensuite été utilisée pour dériver un *screening provisional oral slope factor* fondé d'incidence combinée des tumeurs chez les rats mâles comme suit :

$$\begin{aligned} \text{Screening provisional oral slope factor} &= \frac{\text{BMR}}{\text{BMDL}_{10 \text{ HED}}} = \frac{0,1}{\text{BMDL}_{10 \text{ HED}}} = \frac{0,1}{0,224} \\ &= 0,45 \text{ (mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1})^{-1} \end{aligned}$$

À noter que le rapport de l'US EPA de 2013 sur le Tg-DNT est toujours sous forme provisoire.

6 Proposition de VTR long terme à seuil par voie orale

6.1 2,4-DNT

6.1.1 Choix de l'effet critique

L'analyse des études de toxicité chronique du 2,4-DNT a principalement mis en avant des effets hématotoxiques et hépatotoxiques. Les effets hématotoxiques observés sont une diminution du compte des hématies, une anémie, une réticulocytose, une méthémoglobinémie et la présence de corps de Heinz (Ellis *et al.* 1979 ; Hong *et al.* 1985 ; Lee *et al.* 1985). Ces effets surviennent chez la majorité des animaux exposés (rats, souris et chiens) et sont révélateurs du caractère hémolyse et méthémoglobinisant du 2,4-DNT. La baisse du compte des hématies est un des premiers signes de l'hémolyse. Les effets hépatiques observés, et notamment l'hyperplasie biliaire, sont possiblement la conséquence de cet effet (Ellis *et al.* 1979).

Ainsi, le CES retient la baisse du compte des hématies comme effet critique.

6.1.2 Choix de l'hypothèse de construction

Pour la plupart des effets non cancérogènes, il est considéré par défaut et en l'état actuel des connaissances que la toxicité ne s'exprime qu'au-delà d'un seuil de dose. Ainsi, **le CES considère que l'effet critique résulte d'un mécanisme à seuil de dose.**

6.1.3 Analyse des VTR existantes

Deux VTR long terme par voie orale sont disponibles : une RfD de 0,002 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ établie par l'US EPA en 2008 et un MRL de 0,001 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ par l'ATSDR en 2016. La valeur proposée par l'US EPA est basée sur différents effets critiques (neurotoxicité, présence de corps de Heinz et hyperplasie des voies biliaires) et est dérivée à partir d'un NOAEL, alors qu'il est préférable de s'appuyer sur une BMD lorsque cela est possible (Anses, à paraître). Bien que la valeur de l'ATSDR s'appuie sur l'effet critique retenu par le CES et se base sur une BMDL, aucun ajustement allométrique n'a été réalisé et la modélisation de la BMD ne suit pas la méthode utilisant une moyenne des modèles, comme le recommande l'Anses (Anses, à paraître).

Ainsi, compte tenu de ces limites, le CES ne retient pas les VTR existantes et propose de construire une VTR long terme par voie orale.

6.1.4 Construction de VTR

6.1.4.1 Choix de l'étude clé

L'étude de Ellis *et al.* de 1979 a testé des doses relativement faibles sur les chiens Beagle comparativement à d'autres études menées chez le rat ou la souris (Hong *et al.* 1985 ; Lee *et al.* 1985). Le choix de retenir l'étude portant sur les femelles exposées pendant un an a été fait afin d'utiliser des données pour lesquelles l'effectif dans les différents groupes reste constant (n = 6). Les études chez le mâle ou conduites pendant deux ans ont comparé des effectifs plus faibles dans le groupe le plus exposé, notamment à cause de la mortalité plus importante au sein de ce groupe. La cotation de l'étude par l'outil ToxRTool permet d'affirmer sa bonne qualité (Klimisch 1) (Annexe 4).

Le CES retient l'étude de Ellis *et al.* (1979) comme étude clé.

6.1.4.2 Choix du point de départ

Les données de l'étude de Ellis *et al.* mettent en évidence une relation dose-réponse entre la baisse du compte des hématies chez le chien Beagle et l'exposition à long terme au 2,4-DNT (Tableau 33) (Ellis *et al.* 1979). Celle-ci a été modélisée à l'aide du logiciel BayesianBMD (BBMD, version 0.0.0.9077) (Figure 6) disponible sur le site de l'EFSA pour l'élaboration d'une BMD.

Tableau 33 : Compte des hématies mesuré dans des groupes de chiens Beagle femelles exposés à différentes doses de 2,4-DNT pendant 12 mois (d'après Ellis *et al.* 1979)

Dose (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹)	Compte des hématies (× 10 ¹² /L)	Écart-type	Effectif
0	5,87	0,20	6
0,2	5,54	0,14	6
1,5	4,69	0,25	6
10	4,45	0,26	6

Depuis 2017, l'EFSA recommande notamment l'utilisation de la "moyenne des modèles" (*model averaging*) comme méthode privilégiée pour calculer l'intervalle de confiance de la BMD (EFSA, 2017). Le guide de l'EFSA a récemment été revu afin de s'aligner sur les recommandations du document FAO/OMS IPCS-EHC240 (OMS, 2020, EFSA, 2022). Le

principal changement par rapport au guide de 2017 concerne le passage d'une approche fréquentiste à une approche bayésienne pour estimer la BMD et calculer son intervalle de crédibilité⁸, la "moyenne des modèles" restant recommandée comme méthode privilégiée.

Par ailleurs, il est précisé que les données concernant la dose la plus élevée peuvent être exclues uniquement lorsqu'elles sont clairement influencées par un autre type d'effet ou de mode d'action. En l'absence d'indication d'un autre mode d'action associé pouvant expliquer l'effet d'intérêt, les données ne doivent pas être exclues, sauf si une justification détaillée est fournie.

S'agissant d'une variable continue (mesure d'une variable biologique), l'une des principales difficultés lors de la construction d'une BMDL concerne le choix du BMR, c'est-à-dire le choix de la modification maximale du niveau de réponse considérée comme étant physiologique (ou non néfaste) pour l'effet étudié. Selon les recommandations de l'EFSA (EFSA, 2022) (pour un effet critique portant sur l'augmentation et/ou la diminution d'un niveau d'effet pour une donnée continue), une approche par paliers est préconisée pour les données continues. Ainsi, le CES a choisi de retenir l'approche par paliers pour caractériser le BMR. En l'absence d'un BMR déjà établi, les experts ont fait le choix protecteur d'une valeur de 5 % par défaut, en considérant que, si cette diminution peut être jugée faible à l'échelle individuelle, elle peut être significative au niveau de la population.

Le Tableau 34 indique de façon synthétique la BMD correspondant à l'effet critique et son intervalle de crédibilité à 90 % (BMDL-BMDU) calculés par *model averaging*, en utilisant une méthode d'échantillonnage de Monte Carlo par chaîne de Markov (MCMC) par *bridge sampling*. Les paramètres avancés du logiciel ont été conservés par défaut, soit 30 000 échantillons, 3 chaînes de Markov de 3000 itérations, dont 1000 de rodage.

Les critères de validation (BMD > au dixième de la plus faible dose d'exposition ; BMD/BMDL < 20 ; BMDU/BMDL < 50) sont tous respectés.

Tableau 34 : BMD modélisée et son intervalle de crédibilité à 90 % à partir des données de Ellis et al. (1979), indiquant la baisse du compte des hématies chez des chiens Beagle femelles exposés au 2,4-DNT pendant 12 mois

BMDL*	BMD	BMDU**
0,129 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	0,243 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	0,926 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹

* BMDL : limite inférieure de l'intervalle de crédibilité de la *benchmark dose* ; ** BMDU : limite inférieure de l'intervalle de crédibilité de la *benchmark dose*

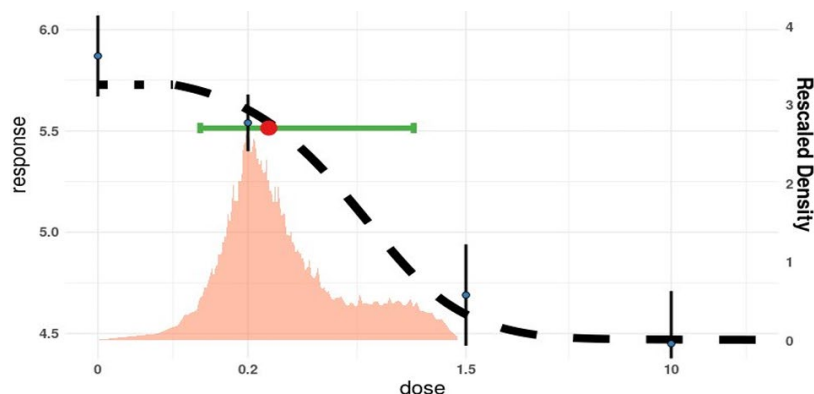


Figure 6 : Modélisation de la diminution du compte des hématies chez le chien Beagle en fonction de l'exposition à long terme au 2,4-DNT, d'après les données de Ellis et al. de 1979

⁸ En statistique bayésienne, on parle d'intervalle de crédibilité et non d'incertitude.

Le CES retient comme point de départ une BMDL₅ de 0,129 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.

6.1.4.3 Ajustement allométrique

Pour réduire l'incertitude sur la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé. Une dose équivalente humaine (HED = *Human Equivalent Dose*) est calculée à l'aide de l'équation suivante⁹ :

$$\text{Dose équivalente}_{\text{Homme}} = \text{Dose}_{\text{animal}} \times \left(\frac{\text{Poids}_{\text{animal}}}{\text{Poids}_{\text{Homme}}} \right)^{1/4}$$

Le poids moyen des chiens femelles est de 8,99 kg à la fin de l'étude (Ellis *et al.* 1979). Celui utilisé pour l'Homme pour le calcul est de 70 kg.

Soit **BMDL_{HED} = 0,077 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹**.

6.1.4.4 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir de la BMDL_{HED} est effectué à l'aide des facteurs d'incertitude (FI) suivants (Anses, à paraître) :

- variabilité inter-espèces (FI_A) : 2,5, pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles ;
- variabilité interindividuelle (FI_H) : 10, afin de prendre en compte la fraction de la population très sensible aux effets associés à l'hémolyse (déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase répandu au niveau du bassin méditerranéen) ;
- transposition subchronique à chronique (FI_S) : 1, l'étude clé étant une étude chronique sur un an¹⁰ ;
- utilisation d'un point de départ (FI_L) : 1, le PoD étant une BMDL ;
- insuffisance des données (FI_D) : 1, plusieurs études chroniques portant sur les effets du 2,4-DNT ont été trouvées dans la littérature, ainsi que des données de reprotoxicité et de toxicité sur le développement.

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

6.1.4.5 Proposition de VTR long terme par voie orale et niveau de confiance

Une VTR long terme à seuil a été calculée en faisant le rapport entre le PoD et le FI global.

$$\text{VTR} = 0,003 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$$

Le niveau de confiance global de cette VTR a été estimé grâce à un outil établi par l'Anses en se fondant sur différents critères (Figure 3) (Annexe 5) :

⁹ Cette équation est issue des recommandations de l'US EPA (US EPA 2006).

¹⁰ L'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) recommande de considérer les études d'au moins un an chez le non-rongeur comme des études chroniques (OECD 2014).

- niveau de confiance dans la nature et la qualité dans le corpus de données (note de 4/5) : les données sont relativement nombreuses et couvrent tous les domaines de la toxicologie (toxicité aiguë à chronique, cancérogénicité, reprotoxicité, génotoxicité) ;
- niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action (note de 2,7/5) : l'effet critique est un effet biologique, observé par plusieurs études réalisées par la même équipe, et est plausible chez l'Homme ;
- niveau de confiance de l'étude clé (note de 5/5) : l'étude est de bonne qualité, la voie d'exposition est la voie orale et la durée est chronique ;
- niveau de confiance dans le choix du point de départ (note de 4/5) : le PoD est une BMDL pour lequel aucun BMR n'était préalablement défini ;

Le niveau de confiance global pour cette VTR est estimé à 3,2/5, soit un **niveau de confiance moyen** (Figure 7).

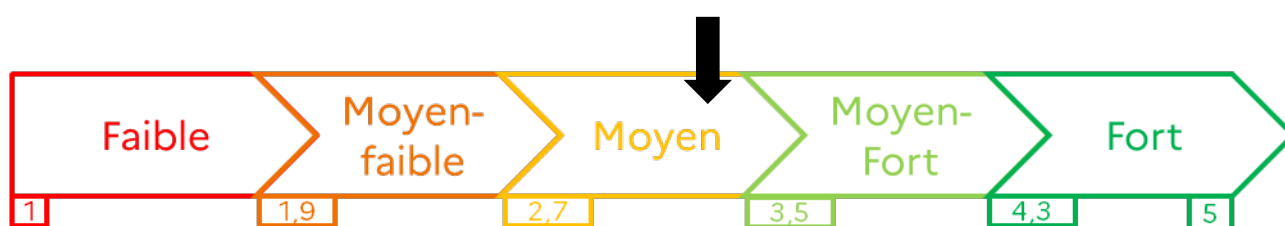


Figure 7 : Niveau de confiance de la VTR long terme à seuil du 2,4-DNT (Anses, à paraître)

6.2 2,6-DNT

6.2.1 Choix de l'effet critique

L'analyse des études de toxicité du 2,6-DNT a principalement mis en avant ses effets hématotoxiques et hépatotoxiques à moyen et long termes chez des chiens Beagle, des souris Swiss albinos et des rats SD (Lee *et al.* 1976).

Ainsi, le CES retient l'hématopoïèse extramédullaire comme effet critique, ces effets apparaissant aux plus faibles doses.

6.2.2 Choix de l'hypothèse de construction

Pour la plupart des effets non cancérogènes, il est considéré par défaut et en l'état actuel des connaissances que la toxicité ne s'exprime qu'au-delà d'un seuil de dose. Ainsi, **le CES considère que l'effet critique résulte d'un mécanisme à seuil de dose.**

6.2.3 Analyse des VTR existantes

Deux VTR long terme par voie orale sont disponibles : une RfD de 0,001 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ établie par l'US EPA en 2008 et une RfD provisoire de 0,0003 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ par l'US EPA en 2013 (US EPA 2008 ; 2013). La première RfD est basée sur différents effets critiques (neurotoxicité, présence de corps de Heinz, hyperplasie des voies biliaires, lésions rénales et hépatiques) et un facteur d'incertitude global de 3 000 a été ajouté au point de départ, un NOAEL de 4 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (Tableau 26). La valeur de 2013 s'appuie sur l'effet critique retenu et se base sur un

NOAEL_{HED} de 3 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ auquel un facteur d'incertitude global de 10 000 a été appliqué. Ces deux valeurs ont été dérivées en utilisant des facteurs d'incertitude très élevés. Un FI_D de 10 a été attribué, malgré l'existence de plusieurs études subchroniques ayant investigué et permis d'observer différents effets toxicologiques pouvant probablement apparaître à long terme également. Un FI_S de 10 a été appliqué pour prendre en compte l'exposition subchronique de l'étude clé bien que la durée de l'étude (13 semaines) soit jugée satisfaisante au regard de l'effet critique retenu.

Ainsi, compte tenu de ces limites, le CES ne retient pas les VTR existantes et propose de construire une VTR long terme par voie orale pour le 2,6-DNT.

6.2.4 Construction de VTR

6.2.4.1 Choix de l'étude clé

L'étude de Lee *et al.*, d'une durée de 13 semaines, est la seule étude de toxicité à doses répétées disponible ayant investigué les différents effets toxiques du 2,6-DNT (Lee *et al.* 1976). L'étude de Leonard *et al.* a été menée chez des rats pendant un an, mais seuls les effets hépatiques ont été recherchés (Leonard *et al.* 1987). L'étude de Lee *et al.* met en évidence les effets hématotoxiques du 2,6-DNT dès la plus faible dose testée de 4 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ chez le chien Beagle, alors qu'ils apparaissent à des doses plus élevées chez le rat SD (37 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) et la souris Swiss albinos (51 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹). Il s'agit d'une étude de bonne qualité (score Klimisch de 1, Annexe 6).

Le CES retient l'étude de Lee *et al.* (1976) portant sur le chien Beagle comme étude clé.

Le choix de cette espèce au sein de l'étude permet d'être protecteur, puisqu'il s'agit de celle pour laquelle les effets ont été observés à la dose la plus faible.

6.2.4.2 Choix du point de départ

Les données de l'étude de Lee *et al.* montrent qu'une légère hématopoïèse extramédullaire est observée dès la plus faible dose testée, qui permet de définir un LOAEL à 4 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, les données ne permettant pas de modéliser une BMD.

Le CES retient comme point de départ un LOAEL de 4 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.

6.2.4.3 Ajustement allométrique

Pour réduire l'incertitude sur la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé. Une dose équivalente humaine (HED) est calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Dose équivalente}_{\text{Homme}} = \text{Dose}_{\text{animal}} \times \left(\frac{\text{Poids}_{\text{animal}}}{\text{Poids}_{\text{Homme}}} \right)^{1/4}$$

Le poids moyen des chiens femelles est de 10,85 kg (Lee *et al.* 1976) et celui retenu pour l'Homme est 70 kg.

Soit **LOAEL_{HED} = 2,5 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.**

6.2.4.4 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir du LOAEL_{HED} a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude (FI) suivants (Anses, à paraître) :

- variabilité inter-espèces (FI_A) : 2,5, pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles ;
- variabilité interindividuelle (FI_H) : 10, car aucune donnée scientifique permettant de réduire la valeur par défaut n'étant disponible ;
- transposition subchronique à chronique (FI_S) : $\sqrt{10}$, car l'étude clé est une étude subchronique (13 semaines) ;
- utilisation d'un point de départ (FI_L) : $\sqrt{10}$, le PoD étant un LOAEL mettant en évidence une légère hématopoïèse extramédullaire ;
- insuffisance des données (FI_D) : $\sqrt{10}$, car si des données existent concernant la toxicité subchronique et chronique, la génotoxicité, la reprotoxicité et la cancérogénicité, les études ne sont pas très nombreuses et proviennent majoritairement de la même équipe.

Un facteur d'incertitude global de 790 est donc utilisé pour la construction de la VTR.

6.2.4.5 Proposition de VTR long terme par voie orale et niveau de confiance

Une VTR long terme à seuil a été calculée en faisant le rapport entre le PoD et le FI global.

$$\text{VTR} = 0,003 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$$

Le niveau de confiance global de cette VTR a été estimé grâce à un outil établi par l'Anses en se fondant sur différents critères (Figure 3, Annexe 6) :

- niveau de confiance dans la nature et la qualité dans le corpus de données (note de 3/5) : les études de toxicité ont investigué les principaux effets (toxicité aiguë à chronique, cancérogénicité, génotoxicité, reprotoxicité), mais leur nombre est relativement faible ;
- niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action (note de 3/5) : l'effet critique est un effet fonctionnel, mis en évidence par plusieurs études menées par la même équipe et dont la transposabilité à l'Homme est plausible ;
- niveau de confiance de l'étude clé (note de 4,3/5) : l'étude de Lee *et al.* est de bonne qualité, mais il s'agit d'une exposition à moyen terme ;
- niveau de confiance dans le choix du point de départ (note de 1/5) : le point de départ est un LOAEL ;

Le niveau de confiance global pour cette VTR est estimé à 2,6/5, soit un **niveau de confiance moyen-faible** (Figure 8).



Figure 8 : Niveau de confiance de la VTR long terme à seuil du 2,6-DNT selon la méthodologie de l'Anses (Anses, à paraître)

6.3 Autres isomères : 2,3-DNT, 2,5-DNT, 3,4-DNT et 3,5-DNT

Il n'existe aucune étude concernant les effets liés aux expositions chroniques ou subchroniques au 2,3-DNT, 2,5-DNT, 2,4-DNT ou 3,5-DNT. À court terme, l'étude de Lent *et al.* a cependant également montré des effets hématotoxiques pour ces quatre isomères (Lent *et al.* 2012a).

En l'absence de données long terme spécifiques de ces isomères, le CES retient la valeur des VTR construites pour le 2,4-DNT et le 2,6-DNT, c'est-à-dire $0,003 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ comme valeur toxicologique indicative (VTi). Une VTi est un repère toxicologique pouvant être utilisé pour l'évaluation d'un risque. Il s'agit d'une valeur indicative moins robuste que la VTR, présentant ainsi un niveau de confiance faible (Anses, à paraître).

6.4 Dinitrotoluène, tous isomères confondus

En l'absence de données long terme spécifiques sur les différents mélanges possibles d'isomères du DNT, le CES retient la VTR construite pour le 2,4-DNT et le 2,6-DNT et appliquée comme VTi aux autres isomères, soit $0,003 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ comme VTi pour le DNT, tous isomères confondus.

7 Proposition de VTR cancérogène par voie orale

7.1 2,4-DNT

7.1.1 Choix de l'effet critique

Les différentes études épidémiologiques recensées ne permettent pas de caractériser les niveaux d'exposition des travailleurs, ni les isomères précis auxquels ils ont été exposés. Elles n'ont donc pas été retenues pour la construction de VTR.

Les études recensées chez l'animal ont mis en évidence différents effets cancérogènes associés au 2,4-DNT principalement aux niveaux hépatique et mammaire, mais aussi au niveau cutané (Lee *et al.* 1985). Pour les cancers mammaires et cutanés, l'association entre

l'exposition au 2,4-DNT et l'augmentation de l'incidence disparaît lorsque seules les tumeurs malignes sont considérées et que les fibroadénomes mammaires sont exclus. En revanche, les données chez des rats femelles montrent un lien entre le niveau d'exposition et le niveau d'incidence des carcinomes hépatocellulaires et des nodules néoplasiques, pouvant être considérés comme précurseurs.

Ainsi, le CES retient l'augmentation de l'incidence de nodules néoplasiques et de carcinomes hépatocellulaires comme effet critique.

7.1.2 Choix de l'hypothèse de construction

L'étude épidémiologique de Sabbioni *et al.* rapporte des effets génotoxiques du 2,4-DNT chez l'Homme (Sabbioni *et al.* 2006), confirmés par plusieurs tests menés chez l'animal (essai de synthèse non programmée de l'ADN, test des micronoyaux), en faveur de la génotoxicité de la substance, notamment au niveau des hépatocytes (Mirsalis *et al.* 1989 ; Suzuki *et al.* 2009; Takasawa *et al.* 2010).

En conclusion, le CES retient le fait que le 2,4-DNT entraîne des effets génotoxiques et que ces effets suivent une relation dose-réponse sans seuil.

7.1.3 Analyse des VTR existantes

Deux VTR long terme sans seuil par voie orale sont disponibles : 0,31 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ défini par l'OEHHA en 2005 et 0,667 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ par l'US EPA en 2008 (OEHHA 2005 ; US EPA 2008). L'analyse de la première valeur, basée sur l'incidence cumulée de tumeurs du foie et de la glande mammaire, a identifié des incohérences dans sa construction (confusion sur l'étude clé et sur la valeur de l'ERU repris de l'US EPA). La deuxième valeur a été dérivée à partir d'une BMDL modélisée par le logiciel de l'US EPA et repose sur l'augmentation de tumeurs de la glande mammaire comme effet critique, sans faire la distinction entre tumeurs malignes et bénignes, alors que lorsque seules les tumeurs malignes sont prises en compte, l'effet dose-réponse disparaît.

Ainsi, compte tenu de ces limites, le CES ne retient pas les VTR existantes et propose de construire une VTR long terme sans seuil par voie orale.

7.1.4 Construction de VTR

7.1.4.1 Choix de l'étude clé

L'étude d'Ellis *et al.* montre notamment une augmentation significative des lésions néoplasiques hépatiques et des carcinomes hépatiques chez les rats SD femelles (Ellis *et al.* 1979). La mortalité intercurrente étant non négligeable, les incidences cumulées sont ajustées à l'aide de la méthode Poly-3 décrite par Bailer et Portier pour tenir compte de la mortalité des animaux, exempts de lésions spécifiques au site, survenant avant la fin de l'essai (Tableau 35) (Bailer et Portier 1988). L'étude obtient un score Klimisch de 1 après analyse à l'aide de ToxRTool (Annexe 8), ce qui correspond à une étude fiable. Il est toutefois relevé que l'écart entre les deux doses testées les plus élevées (5,1 et 45 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) est important.

Tableau 35 : Incidence des lésions néoplasiques et des carcinomes hépatiques observés après exposition au 2,4-DNT chez des rats SD femelles (Ellis *et al.* 1979)

Dose mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	Lésions néoplasiques et carcinomes hépatiques	Nombre d'animaux au début de l'expérience	Nombre d'animaux après ajustement
0	0	23	19
0,7	3	35	26
5,1	3	27	21
45	23	35	29

Le CES retient l'étude de Ellis *et al.* de 1979 chez le rat comme étude clé.

7.1.4.2 Choix du point de départ

Les données de l'étude de Ellis *et al.* mettent en évidence une relation dose-réponse entre l'apparition de nodules néoplasiques et de carcinomes hépatocellulaires chez les femelles et l'exposition à long terme au 2,4-DNT. Celle-ci a été modélisée à l'aide du logiciel Bayesian benchmark dose modeling (BBMD, version 0.0.0.9077) disponible sur le site de l'EFSA pour l'élaboration d'une BMD. Dans le cas de données dichotomiques, un BMR à 10 % (extra-risk) est recommandé (Figure 9).

Le Tableau 36 indique de façon synthétique la BMD et son intervalle de crédibilité à 90 % (BMDL-BMDU) obtenus pour l'effet critique par *model averaging*. Les paramètres avancés du logiciel ont été conservés par défaut, soit 30 000 échantillons, 3 chaînes de Markov de 3000 itérations, dont 1000 de rodage.

Tableau 36 : BMD modélisée et son intervalle de crédibilité à 90 % (BMDL-BMDU) à partir de l'étude de Ellis *et al.* (1979), en retenant les lésions néoplasiques et les carcinomes hépatiques chez les femelles comme effet critique et un BMR de 10 %

BMDL	BMD	BMDU
2,908 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	10,342 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	31,66 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹

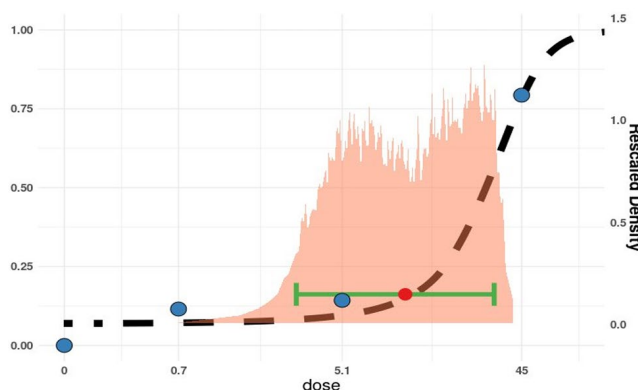


Figure 9 : Modélisation de l'augmentation de l'incidence de nodules néoplasiques et de carcinomes hépatocellulaires chez les femelles et fonction des niveaux d'exposition au 2,4-DNT

Les critères de validation (BMD > au dixième de la plus faible dose d'exposition ; BMD/BMDL < 20 ; BMDU/BMDL < 50) sont tous respectés. Néanmoins, la BMDL₁₀ se trouve légèrement inférieure à la dose de 5,1 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ correspondant au NOAEL. Le CES souligne les incertitudes liées à cette BMDL notamment dues à l'écart entre les deux dernières doses testées et au choix du BMR par défaut par rapport aux niveaux de réponse aux deux plus

faibles doses (11 % à 0,7 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ et 14 % pour 5,1 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹). **Malgré ces réserves et en considérant que le *model averaging* en inférence bayésienne encadre bien l'incertitude liée aux modèles, le CES retient la BMDL₁₀ de 2,908 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ comme point de départ, celle-ci étant protectrice au regard de la sévérité de l'effet.**

7.1.4.3 Ajustement allométrique

Pour réduire l'incertitude sur la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé. Une dose équivalente humaine (HED) est calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Dose équivalente}_{\text{Homme}} = \text{Dose}_{\text{animal}} \times \left(\frac{\text{Poids}_{\text{animal}}}{\text{Poids}_{\text{Homme}}} \right)^{1/4}$$

La moyenne des poids moyens mensuels des rats femelles est de 384 g (Ellis *et al.* 1979) et le poids retenu pour l'Homme est de 70 kg.

Soit **BMDL_{HED} = 0,79 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹**.

7.1.4.4 Proposition de VTR long terme sans seuil par voie orale et niveau de confiance

Un ERU a été calculé en faisant le rapport entre le BMR et la BMDL_{HED} :

$$\text{ERU} = 0,13 \text{ (mg.kg pc}^{-1}\text{.j}^{-1}\text{)}^{-1}$$

Cet ERU correspond à des doses de 770 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁴, 77 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁵ et 7,7 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁶.

Le niveau de confiance global de cet ERU a été estimé grâce à un outil établi par l'Anses en se fondant sur différents critères (Figure 3) (Annexe 9) :

- niveau de confiance dans la nature et la qualité dans le corpus de données (note de 4/5) : les données sont relativement nombreuses, mais proviennent principalement de la même équipe ;
- niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action (note de 3,7/5) : l'effet critique correspond à une lésion cancéreuse mise en évidence dans quelques études et est de manière plausible transposable à l'Homme ;
- niveau de confiance dans le choix de l'hypothèse de construction (note 3/5) : si la génotoxicité est probable, certaines données sont contradictoires ;
- niveau de confiance de l'étude clé (note de 5/5) : l'étude de Ellis *et al.* de 1979 est de bonne qualité et les animaux sont exposés de manière chronique par voie orale
- niveau de confiance dans le choix du point de départ (note de 4/5) : le PoD est une BMDL, mais elle est inférieure à une dose testée pour laquelle l'incidence n'était pas significative. Cela est en partie lié à l'écart important entre les doses ;
- niveau de confiance dans la construction des VTR sans seuil (note de 2/5) : la BMDL est légèrement inférieure à une dose expérimentale ne produisant pas d'effet significatif.

Le niveau de confiance global pour cet ERU est estimé à 3,9/5, soit un **niveau de confiance moyen-fort** (Figure 10).

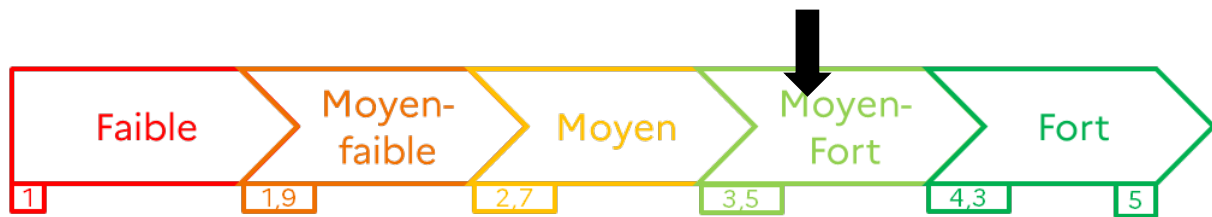


Figure 10 : Niveau de confiance de l'ERU du 2,4-DNT selon la méthodologie Anses (Anses, à paraître)

7.2 2,6-DNT

7.2.1 Choix de l'effet critique

Les différentes études épidémiologiques recensées ne permettent pas de caractériser les niveaux d'exposition des travailleurs ni les isomères précis auxquels ils ont été exposés. Elles n'ont donc pas été retenues pour la construction de VTR.

Une seule étude de cancérogenèse chez l'animal a été identifiée, mettant en évidence une augmentation de l'incidence des cholangiocarcinomes et des carcinomes hépatocellulaires chez des rats mâles F344 en lien avec l'exposition au 2,6-DNT.

Ainsi, le CES retient l'augmentation de l'incidence des carcinomes hépatocellulaires comme effet critique.

7.2.2 Choix de l'hypothèse de construction

Les données concernant la génotoxicité du 2,6-DNT ne sont pas toutes concordantes. Cependant, la plupart des tests réalisés ont mis en avant des dommages à l'ADN, la formation d'adduits et l'apparition d'aberrations chromosomiques suite à l'exposition à cet isomère, notamment au niveau des hépatocytes (Jones *et al.* 2005a; Rothfuss *et al.* 2010 ; Takasawa *et al.* 2010 ; Lent *et al.* 2012b).

En conclusion, le CES retient le fait que le 2,6-DNT entraîne des effets génotoxiques et que les effets suivent une relation dose-réponse sans seuil.

7.2.3 Analyse des VTR existantes

Une VTR long terme sans seuil par voie orale a été dérivée par l'US EPA en 2013. Il s'agit d'un *oral slope factor* provisoire de 1,5 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹. Le point de départ est une BMDL modélisée à l'aide du logiciel de l'US EPA, utilisant un modèle multi-étapes (*multistage cancer model*), sans faire de moyenne des modèles (*model averaging*).

La valeur étant provisoire et la BMD utilisée n'ayant pas été modélisée en utilisant une moyenne des modèles, le CES ne retient pas la VTR existante et propose de construire une VTR long terme sans seuil par voie orale.

7.2.4 Construction de VTR

7.2.4.1 Choix de l'étude clé

Une seule étude de cancérogénèse a été identifiée lors de la revue de la littérature, celle de Leonard *et al.*, portant sur des rats mâles F344 exposés pendant un an à des doses de 0, 7 ou 14 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ de 2,6-DNT (Leonard *et al.* 1987). L'étude obtient un score de Klimisch de 2 et est donc considérée comme fiable avec certaines restrictions (Annexe 10).

Bien que de durée d'exposition un peu courte, le CES retient l'étude de Leonard *et al.* de 1987 comme étude clé.

7.2.4.2 Choix du point de départ

Les données de l'étude de Leonard *et al.* mettent en évidence une relation dose-réponse entre l'apparition de carcinomes hépatocellulaires et l'exposition à long terme au 2,6-DNT (Tableau 37). Celle-ci a été modélisée à l'aide du logiciel Bayesian benchmark dose modeling (BBMD, version 0.0.0.9077) disponible sur le site de l'EFSA pour l'élaboration d'une BMD (Figure 11).

Tableau 37 : Incidence des carcinomes hépatiques observée après exposition au 2,6-DNT chez des rats SD mâles (Leonard *et al.* 1987)

Dose (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹)	Nombre de cas incidents de carcinome hépatique	Effectif
0	0	20
7	17	20
14	19	19

Dans le cas de données dichotomiques, un BMR à 10 % (extra-risk) est recommandé.

Le Tableau 38 indique de façon synthétique la BMD et son intervalle de crédibilité à 90 % (BMDL-BMDU) du *model averaging* obtenus pour l'effet critique en utilisant une méthode d'échantillonnage de Monte Carlo par chaîne de Markov (MCMC) par *bridge sampling*.

Tableau 38 : BMD modélisée et son intervalle de crédibilité à 90 % (BMDL-BMDU) à partir de l'étude de Leonard *et al.* de 1987, en retenant les carcinomes hépatiques chez les rats mâles comme effet critique et un BMR de 10 %

BMDL	BMD	BMDU
0,468 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	3,095 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	5,491 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹

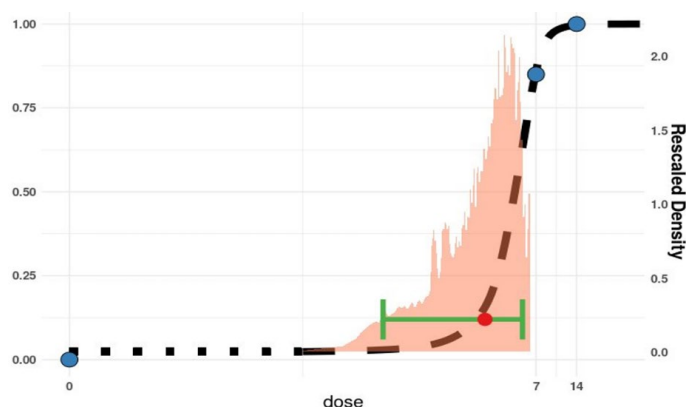


Figure 11 : Modélisation de l'augmentation de l'incidence de carcinomes hépatocellulaires chez les rats mâles suite à l'exposition au 2,6-DNT

Les critères de validation (BMD > au dixième de la plus faible dose d'exposition ; BMD/BMDL < 20 ; BMDU/BMDL < 50) sont tous respectés. Néanmoins, la BMD est inférieure à la première dose testée du fait de l'incidence forte observée aux deux doses testées, ce qui entraîne une certaine réserve sur cette valeur. **Malgré celle-ci et en considérant que le *model averaging* encadre bien la variabilité liée aux différents modèles, le CES retient la BMDL₁₀ de 0,468 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.**

7.2.4.3 Ajustement allométrique

Pour réduire l'incertitude sur la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé. Une dose équivalente humaine (HED) est calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Dose équivalente}_{\text{Homme}} = \text{Dose}_{\text{animal}} \times \left(\frac{\text{Poids}_{\text{animal}}}{\text{Poids}_{\text{Homme}}} \right)^{1/4}$$

La moyenne des poids moyens mensuels des rats mâles issue de l'étude clé est de 376 g et le poids retenu pour l'Homme est de 70 kg.

Soit **BMDL_{HED} = 0,13 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹**.

7.2.4.4 Proposition de VTR long terme sans seuil par voie orale et niveau de confiance

Un ERU a été calculé en faisant le rapport entre le BMR et la BMDL_{HED}.

$$\text{ERU} = 0,79 \text{ (mg.kg pc}^{-1}\text{.j}^{-1}\text{)}^{-1}$$

Cet ERU correspond à des doses de 130 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁴, 13 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁵ et 1,3 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁶.

Le niveau de confiance global de cet ERU a été estimé grâce à un outil établi par l'Anses en se fondant sur différents critères (Figure 3) (Annexe 11) :

- niveau de confiance dans la nature et la qualité dans le corpus de données (note de 1/5) : une seule étude de cancérogénicité a été répertoriée ;
- niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action (note de 3,3/5) : l'effet critique correspond à une lésion cancéreuse dont l'association avec un autre isomère du DNT a été observée. Sa transposabilité à l'Homme est plausible ;
- niveau de confiance dans le choix de l'hypothèse de construction (note 4/5) : les différentes études sont en faveur de la génotoxicité du 2,6-DNT ;
- niveau de confiance de l'étude clé (note de 4/5) : la voie et la durée d'exposition correspondent à la VTR construite, mais seules deux doses ont été testées en plus du témoin ;
- niveau de confiance dans le choix du point de départ (note de 4/5) : le PoD est une BMDL dont la valeur est inférieure à la dose testée la plus faible ;
- niveau de confiance dans la construction des VTR sans seuil (note de 1/5) : la BMDL est en-dehors de la gamme des doses testées.

Le niveau de confiance global pour cet ERU est estimé à 3,3/5, soit un **niveau de confiance moyen** (Figure 12).

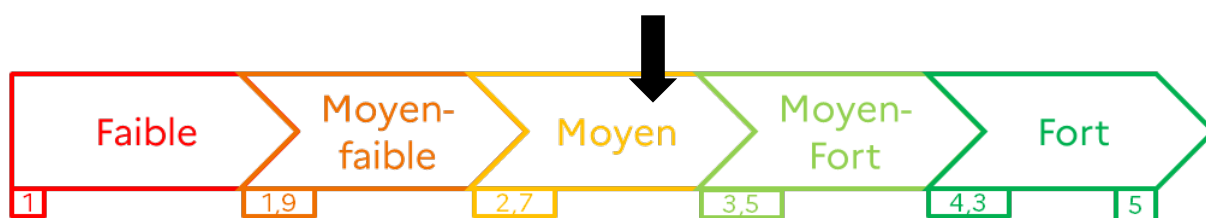


Figure 12 : Niveau de confiance de l'ERU du 2,6-DNT (Anses, à paraître)

7.3 Autres isomères : 2,3-DNT, 2,5-DNT, 3,4-DNT et 3,5-DNT

En l'absence d'étude de cancérogénèse associée au 2,3-DNT, 2,5-DNT, 3,4-DNT ou 3,5-DNT, le CES retient la valeur la plus protectrice parmi les ERU déterminés pour le 2,4-DNT et le 2,6-DNT, **c'est-à-dire 0,79 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ comme VTi**. S'agissant d'une VTi, le niveau de confiance associé est faible.

Cet ERU correspond à des doses de 130 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁴, 13 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁵ et 1,3 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁶.

7.4 Dinitrotoluène, tous isomères confondus

Dans le cas d'un mélange d'isomères du DNT, dont la proportion de chacun peut varier, il convient d'appliquer à chaque isomère l'ERU qui a été défini précédemment, soit 0,13 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ pour le 2,4-DNT et 0,79 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ pour les autres isomères. L'estimation du risque global peut alors se faire en faisant la somme des excès de risque individuel (ERI) calculés à partir des ERU.

8 Conclusions du CES

Plusieurs VTR et VTi long terme à seuil et sans seuil par voie orale ont été construites pour le 2,4 et le 2,6-DNT (Tableau 39 et Tableau 40). La VTR long terme à seuil par voie orale du 2,4-DNT est basée sur la diminution du compte des hématies. Un niveau de confiance moyen a été attribué à cette VTR. La VTR long terme à seuil par voie orale du 2,6-DNT est basée sur l'hématopoïèse extramédullaire. Un niveau de confiance moyen-faible a été attribué à cette VTR. La VTR long terme sans seuil par voie orale du 2,4-DNT est basée sur l'augmentation de l'incidence des carcinomes hépatocellulaires et des nodules néoplasiques hépatiques. Un niveau de confiance moyen-fort a été attribué à cette VTR. La VTR long terme sans seuil par voie orale du 2,6-DNT est basée sur l'augmentation de l'incidence des carcinomes hépatocellulaires. Un niveau de confiance moyen a été attribué à cette VTR.

En l'absence de données de toxicité chronique et de cancérogénèse, des VTi à seuil et sans seuil ont été proposées pour les quatre autres isomères et pour la somme des isomères, en considérant les valeurs les plus protectrices des VTR élaborées pour les 2,4- et 2,6-DNT. Leur niveau de confiance est faible.

Les isomères du DNT n'étant pas retrouvés isolés dans les milieux, mais bien présents en mélange, une VTi pour la somme des isomères du DNT est recommandée pour les effets à

seuil de dose. Elle correspond à la VTR déterminée individuellement pour chacun des différents isomères, soit $0,003 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$.

Pour les effets cancérogènes sans seuil de dose, dans le cas d'un mélange d'isomère du DNT, il convient d'appliquer à chaque isomère l'ERU qui a été défini précédemment, soit $0,13 \text{ (mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1})^{-1}$ pour le 2,4-DNT et $0,79 \text{ (mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1})^{-1}$ pour les autres isomères. L'estimation du risque global peut alors se faire en faisant la somme des excès de risque individuel (ERI) calculés à partir des ERU.

Certaines études épidémiologiques semblent indiquer que la voie d'absorption cutanée n'est pas négligeable et doit être prise en compte dans le cadre d'évaluations des risques sanitaires.

Tableau 39 : VTR et VTi long terme à seuil par voie orale pour les six isomères du DNT et le mélange d'isomères

		2,4-DNT	2,6-DNT	2,3-DNT	2,5-DNT	3,4-DNT	3,5-DNT	DNT
VR	Organisme	Anses	Anses	Anses				
	Année	2024	2024	2024				
	Nom	VTR	VTR	VTi				
	Valeur	0,003 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹	0,003 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹	0,003 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹				
Population cible		Population générale	Population générale	Population générale				
Effet critique		Diminution du compte des hématies	Hématopoïèse extramédullaire	Valeur basée sur les VTR construites pour le 2,4-DNT et le 2,6-DNT				
Étude clé	Référence	Ellis <i>et al.</i> 1979	Lee <i>et al.</i> 1976					
	Espèce	Chien Beagle femelle	Chien Beagle femelle					
	Exposition (durée, voie)	Orale (gélules), 12 mois	Orale (gélules), 13 semaines					
Point de départ (PoD)		BMDL ₅ = 0,129 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	LOAEL = 4 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹					
Ajustement temporel		/	/					
Ajustement allométrique		BMDL _{5 HED} = 0,0772 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	LOAEL _{HED} = 2,510 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹					
Facteurs d'incertitude (FI)		25 FI _A : 2,5, FI _{H-TK} : 10	790 FI _A : 2,5, FI _{H-TK} : 10, FI _L : √10, FI _S : √10, FI _D : √10					
Niveau de confiance		Moyen	Moyen-faible	Faible				

Tableau 40 : VTR et VTi long terme sans seuil par voie orale pour les six isomères du DNT*

		2,4-DNT	2,6-DNT	2,3-DNT	2,5-DNT	3,4-DNT	3,5-DNT
VR	Organisme	Anses	Anses	Anses			
	Année	2024	2024	2024			
	Nom	ERU	ERU	VTi			
	Valeur	0,13 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ 770 ng.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁴ 77 ng.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁵ 7,7 ng.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁶	0,79 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ 130 ng.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁴ 13 ng.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁵ 1,3 ng.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁶	0,79 (mg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ 130 ng.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁴ 13 ng.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁵ 1,3 ng.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁶			
Population cible		Population générale	Population générale	Population générale			
Effet critique		Augmentation de l'incidence des carcinomes hépatocellulaires et nodules néoplasiques	Augmentation de l'incidence des carcinomes hépatocellulaires	Valeur basée sur la VTR construite pour le 2,6-DNT			
Étude clé	Référence	Ellis <i>et al.</i> 1979	Leonard <i>et al.</i> 1987				
	Espèce	Rat SD femelle	Rat F344 mâle				
	Exposition (voie, durée)	Orale, supérieure à 1 an	Orale, 1 an				
Point de départ (PoD)		BMDL ₁₀ = 2,91 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	BMDL ₁₀ = 0,47 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹				
Ajustement temporel		/	/				
Ajustement allométrique		BMDL _{10 HED} = 0,79 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	BMDL _{10 HED} = 0,13 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹				
Construction		Extrapolation linéaire aux faibles doses					
Niveau de confiance		Moyen-fort	Moyen	Faible			

* Pour les effets cancérigènes sans seuil de dose, dans le cas d'un mélange d'isomères du DNT, il convient d'appliquer à chaque isomère l'ERU qui a été défini. L'estimation du risque global peut alors se faire en faisant la somme des excès de risque individuel (ERI) calculés à partir des ERU.

Date de validation du rapport d'expertise collective par le CES « Valeurs sanitaires de référence » : 27 juin 2024

Signature :

Maisons-Alfort, le ,

Au nom des experts du CES
« Valeurs sanitaires de référence »,

M Michiels
Président du CES

9 Bibliographie

- **Sources** : PubMed et Scopus
- **Date de fin** : 3 avril 2024

9.1 Publications

- Abernethy, D. J., et D. B. Couch. 1982. « Cytotoxicity and mutagenicity of dinitrotoluenes in Chinese hamster ovary cells ». *Mutation Research Letters* 103 (1) : 53-59. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(82\)90087-2](https://doi.org/10.1016/0165-7992(82)90087-2).
- Anses. à paraître. « Valeurs toxicologiques de référence - Guide d'élaboration de l'Anses ». Maisons-Alfort.
- Ashby, J., B. Burlinson, P. A. Lefevre, et J. Topham. 1985. « Non-genotoxicity of 2,4,6-Trinitrotoluene (TNT) to the mouse bone marrow and the rat liver: implications for its carcinogenicity ». *Archives of Toxicology* 58 (1) : 14-19. <https://doi.org/10.1007/BF00292610>.
- ATSDR. 2016. « Toxicological Profile for Dinitrotoluenes ». Atlanta (GA) : Agency for Toxic Substances and Disease Registry (US). Consulté le 7 novembre 2023. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK591584/>.
- Bailer, A. J., et C. J. Portier. 1988. « Effects of treatment-induced mortality and tumor-induced mortality on tests for carcinogenicity in small samples ». *Biometrics* 44 (2) : 417-31.
- Bloch, Eric, Bernard Gondos, Michael Gatz, Santosh K. Varma, et Benjamin Thyssen. 1988. « Reproductive toxicity of 2,4-dinitrotoluene in the rat ». *Toxicology and Applied Pharmacology* 94 (3) : 466-72. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(88\)90287-6](https://doi.org/10.1016/0041-008X(88)90287-6).
- Brüning, T., C. Chronz, R. Thier, J. Havelka, Y. Ko, et Hermann M. Bolt. 1999. « Occurrence of urinary tract tumors in miners highly exposed to dinitrotoluene ». *Journal of occupational and environmental medicine* 41 (3). <https://doi.org/10.1097/00043764-199903000-00003>.
- Chadwick, R.W., S.E. George, M.J. Kohan, R.W. Williams, J.C. Allison, Y.O. Hayes, et J. Chang. 1993. « Potentiation of 2,6-dinitrotoluene genotoxicity in Fischer-344 rats by pretreatment with Aroclor 1254 ». *Toxicology* 80 (2) : 153-71. [https://doi.org/10.1016/0300-483X\(93\)90178-U](https://doi.org/10.1016/0300-483X(93)90178-U).
- CIIT. 1982. « 104-Week Toxicity Study in Rats Given Dinitrotoluene ». Chemical Industry Institute of Toxicology.
- Deng, Youping, Sharon A. Meyer, Xin Guan, Barbara Lynn Escalon, Junmei Ai, Mitchell S. Wilbanks, Ruth Welti, Natàlia Garcia-Reyero, et Edward J. Perkins. 2011. « Analysis of Common and Specific Mechanisms of Liver Function Affected by Nitrotoluene Compounds ». *PLOS ONE* 6 (2) : e14662. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014662>.
- DFG. 2023. « List of MAK and BAT Values 2023 ». 59.
- ECHA. 2010. « Service Request on Providing Actual Data on the European Market, Uses and Releases/Exposures for 2,4-Dinitrotoluene ».
- Ellis, H. V., J. H. Hagensen, J. L. Minor, C. B. Hong, E. R. Ellis, J. D. Girvin, D. O. Helton, B. L. Herndon, et C. Lee. 1979. « Mammalian Toxicity of Munitions Compounds. Phase III: Effects of Life-Time Exposure. Part I: 2,4-Dinitrotoluene ». 7. US Army Medical Research and Development Command. <https://apps.dtic.mil/sti/pdfs/ADA077692.pdf>.
- Ellis, H. V., C. B. Hong, et C. C. Lee. 1980. « Mammalian Toxicity of Munitions Compounds. Summary of Toxicity of Nitrotoluenes ». 11. US Army Medical Research and Development Command. <https://apps.dtic.mil/sti/tr/pdf/ADA080146.pdf>.

- Ellis, H. V., C. B. Hong, C. C. Lee, J. C. Dacre, et J. P. Glennon. 1985. « Subchronic and Chronic Toxicity Studies of 2,4-Dinitrotoluene. Part I. Beagle Dogs ». *Journal of the American College of Toxicology* 4 (4) : 233-42.
- George, S. Elizabeth, Michael J. Kohan, et Sarah H. Warren. 1996. « Hepatic DNA adducts and production of mutagenic urine in 2,6-dinitrotoluene-treated B6C3F, male mice ». *Cancer Letters* 102 (1) : 107-11. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(96\)04166-3](https://doi.org/10.1016/0304-3835(96)04166-3).
- Goldsworthy, T. L., T. E. Hamm, D. E. Rickert, et J. A. Popp. 1986. « The effect of diet on 2,6-dinitrotoluene hepatocarcinogenesis ». *Carcinogenesis* 7 (11) : 1909-15. <https://doi.org/10.1093/carcin/7.11.1909>.
- Guest, D., S. R. Schnell, D. E. Rickert, et J. G. Dent. 1982. « Metabolism of 2,4-dinitrotoluene by intestinal microorganisms from rat, mouse, and man ». *Toxicology and Applied Pharmacology* 64 (1) : 160-68. [https://doi.org/10.1016/0041-008x\(82\)90335-0](https://doi.org/10.1016/0041-008x(82)90335-0).
- Hamill, P. V., E. Steinberger, R. J. Levine, L. J. Rodriguez-Rigau, S. Lemeshow, et J. S. Avrunin. 1982. « The epidemiologic assessment of male reproductive hazard from occupational exposure to TDA and DNT ». *Journal of Occupational Medicine.: Official Publication of the Industrial Medical Association* 24 (12) : 985-93.
- Harth, Volker, Hermann M. Bolt, et Thomas Brüning. 2005. « Cancer of the urinary bladder in highly exposed workers in the production of dinitrotoluenes: a case report ». *International Archives of Occupational and Environmental Health* 78 (8) : 677-80. <https://doi.org/10.1007/s00420-005-0012-4>.
- Hong, C.B., H.V. Ellis III, C.C. Lee, H. Sprinz, J.C. Dacre, et J.P. Glennon. 1985. « Subchronic and Chronic Toxicity Studies of 2,4-Dinitrotoluene. Part III. CD-1® Mice ». *Journal of the American College of Toxicology* 4 (4) : 257-69.
- Huang, Q.-G., L.-R. Kong, Y.-B. Liu, et L.-S. Wang. 1996. « Relationships Between Molecular Structure and Chromosomal Aberrations in In Vitro Human Lymphocytes Induced by Substituted Nitrobenzenes ». *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 57 (3) : 349-53. <https://doi.org/10.1007/s001289900197>.
- IARC. 1996. « Printing Processes and Printing Inks, Carbon Black and Some Nitro Compounds ». IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Consulté le 7 novembre 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK424337/>.
- Jones, C. R., O. Sepai, Y. Y. Liu, H. Yan, et G. Sabbioni. 2005a. « Hemoglobin adducts in workers exposed to nitrotoluenes ». *Carcinogenesis* 26 (1) : 133-43. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgh286>.
- . 2005b. « Urinary metabolites of workers exposed to nitrotoluenes ». *Biomarkers: Biochemical Indicators of Exposure, Response, and Susceptibility to Chemicals* 10 (1) : 10-28. <https://doi.org/10.1080/13547500500079670>.
- Karthikeyan, Bagavathy Shanmugam, Janani Ravichandran, Karthikeyan Mohanraj, R. P. Vivek-Ananth, et Areejit Samal. 2019. « A curated knowledgebase on endocrine disrupting chemicals and their biological systems-level perturbations ». *The Science of the Total Environment* 692 (novembre) : 281-96. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.225>.
- Kedderis, G. L., M. C. Dyroff, et D. E. Rickert. 1984. « Hepatic macromolecular covalent binding of the hepatocarcinogen 2,6-dinitrotoluene and its 2,4-isomer in vivo: modulation by the sulfotransferase inhibitors pentachlorophenol and 2,6-dichloro-4-nitrophenol ». *Carcinogenesis* 5 (9) : 1199-1204. <https://doi.org/10.1093/carcin/5.9.1199>.
- Kozuka, Hiroshi, Masa-aki Mori, et Yoshifumi Naruse. 1979. « Studies on the metabolism and toxicity of dinitrotoluenes toxicological study of 2,4-dinitrotoluene (2,4-DNT) in rats in long term feeding ». *The Journal of Toxicological Sciences* 4 (3) : 221-28.

- La, David K., et John R. Froines. 1993. « Comparison of DNA binding between the carcinogen 2,6-dinitrotoluene and its noncarcinogenic analog 2,6-diaminotoluene ». *Mutation Research Letters* 301 (2) : 79-85. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(93\)90028-T](https://doi.org/10.1016/0165-7992(93)90028-T).
- Lane, Richard W., Glenn Stuart Simon, Robert W. Dougherty, John L. Egle, Joseph F. Borzelleca, Glenn S. Simon, et Robert W. Dougherty. 1985. « Reproductive Toxicity and Lack of Dominant Lethal Effects of 2,4-Dinitrotoluene in the Male Rat ». *Drug and Chemical Toxicology* 8 (4) : 265-80. <https://doi.org/10.3109/01480548509038650>.
- Lee, C., H. V. Ellis, J. J. Kowalski, J. R. Hodgson, S. W. Hwang, R. D. Short, J. C. Bhandari, J. L. Sanyer, T. W. Reddig, et J. L. Minor. 1978. « Mammalian toxicity of munitions compounds. Phase II: effects of multiple doses. Part II: 2,4-dinitrotoluene ». 3. US Army. <https://apps.dtic.mil/sti/pdfs/ADA061715.pdf>.
- Lee, C., H. V. Ellis, J. J. Kowalski, J. R. Hodgson, R. D. Short, J. C. Bhandari, T. W. Reddig, et J. L. Minor. 1976. « Mammalian toxicity of munitions compounds. Phase II: effects of multiple doses. Part III: 2,6-dinitrotoluene ». 4. US Army Medical Research and Development Command. <https://apps.dtic.mil/sti/pdfs/ADA062015.pdf>.
- Lee, C.C., C.B. Hong, H.V. Ellis, J.C. Dacre, et J.P. Glennon. 1985. « Subchronic and Chronic Toxicity Studies of 2,4-Dinitrotoluene. Part II. CD® Rats ». *Journal of the American College of Toxicology* 4 (4) : 243-56. <https://doi.org/10.3109/10915818509078677>.
- Lent, Emily May, Lee C. B. Crouse, Michael J. Quinn Jr, et Shannon M. Wallace. 2012a. « Comparison of the Repeated Dose Toxicity of Isomers of Dinitrotoluene ». *International Journal of Toxicology* 31 (2) : 143-57.
- Lent, Emily May, Lee C.B. Crouse, Michael J. Quinn Jr, et Shannon M. Wallace. 2012b. « Assessment of the in vivo genotoxicity of isomers of dinitrotoluene using the alkaline Comet and peripheral blood micronucleus assays ». *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 742 (1-2) : 54-60.
- Leonard, T. B., M. E. Graichen, et J. A. Popp. 1987. « Dinitrotoluene isomer-specific hepatocarcinogenesis in F344 rats ». *Journal of the National Cancer Institute* 79 (6) : 1313-19.
- Levine, R. J., D. A. Andjelkovich, S. Kersteter, E. W. Arp, S. A. Balogh, P. B. Blunden, et J. M. Stanley. 1986. « Mortality of munitions workers exposed to dinitrotoluene ». US Army Medical Research and Development Command. <https://apps.dtic.mil/sti/pdfs/ADA167600.pdf>.
- Levine, R. J., M. J. Turner, Y. S. Crume, M. E. Dale, T. B. Starr, et D. E. Rickert. 1985. « Assessing exposure to dinitrotoluene using a biological monitor ». *Journal of Occupational Medicine.: Official Publication of the Industrial Medical Association* 27 (9) : 627-38.
- Long, R. M., et D. E. Rickert. 1982. « Metabolism and excretion of 2,6-dinitro [14C]toluene in vivo and in isolated perfused rat livers. » *Drug Metabolism and Disposition* 10 (5) : 455-58.
- McGee, L. M., A. McCausland, C. A. Plume, et N. C. Marlett. 1942. « Metabolic disturbances in workers exposed to dinitrotoluene ». *American Journal of Digestive Disease* 9 : 329-32.
- McGown, Evelyn L., John J. Knudsen, George T. Makovec, Glen E. Marrs, et Jr. 1983. « Fourteen-Day Feeding Study of 2,4-Dinitrotoluene in Male and Female Rats ». Defense Technical Information Center.
- Medinsky, M. A., et J. G. Dent. 1983. « Biliary excretion and enterohepatic circulation of 2,4-dinitrotoluene metabolites in Fischer-344 rats ». *Toxicology and Applied Pharmacology* 68 (3) : 359-66. [https://doi.org/10.1016/0041-008x\(83\)90279-x](https://doi.org/10.1016/0041-008x(83)90279-x).
- Mirsalis, J. C., et B. E. Butterworth. 1982. « Induction of unscheduled DNA synthesis in rat hepatocytes following in vivo treatment with dinitrotoluene ». *Carcinogenesis* 3 (3) : 241-45. <https://doi.org/10.1093/carcin/3.3.241>.

- Mirsalis, J. C., C. K. Tyson, K. L. Steinmetz, E. K. Loh, C. M. Hamilton, J. P. Bakke, et J. W. Spalding. 1989. « Measurement of unscheduled DNA synthesis and S-phase synthesis in rodent hepatocytes following in vivo treatment: testing of 24 compounds ». *Environmental and Molecular Mutagenesis* 14 (3) : 155-64. <https://doi.org/10.1002/em.2850140305>.
- Mori, M., Y. Kudo, T. Nunozawa, T. Miyahara, et H. Kozuka. 1985. « Intestinal metabolism of 2,4-dinitrotoluene in rats ». *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 33 (1) : 327-32. <https://doi.org/10.1248/cpb.33.327>.
- Mori, M.-A., M. Sayama, M. Shoji, M. Inoue, T. Kawagoshi, M. Maeda, et T. Honda. 1997. « Biliary excretion and microfloral transformation of major conjugated metabolites of 2,4-dinitrotoluene and 2,6-dinitrotoluene in the male Wistar rat ». *Xenobiotica* 27 (12) : 1225-36. <https://doi.org/10.1080/004982597239813>.
- National Cancer Institute. 1978. « Bioassay of 2,4-Dinitrotoluene for Possible Carcinogenicity ». NIH. Consulté le 7 novembre 2023. https://ntp.niehs.nih.gov/sites/default/files/ntp/htdocs/lt_rpts/tr054.pdf.
- OECD. 2014. *Guidance Document 116 on the Conduct and Design of Chronic Toxicity and Carcinogenicity Studies, Supporting Test Guidelines 451, 452 and 453: Second edition*. OECD Series on Testing and Assessment. OECD. <https://doi.org/10.1787/9789264221475-en>.
- OEHHA. 2005. « Technical Support Document for Describing Available Cancer Potency Factors ». California.
- Ouzzani, Mourad, Hossam Hammady, Zbys Fedorowicz, et Ahmed Elmagarmid. 2016. « Rayyan—a web and mobile app for systematic reviews ». *Systematic Reviews* 5 (1) : 210. <https://doi.org/10.1186/s13643-016-0384-4>.
- Price, C. J., R. W. Tyl, T. A. Marks, L. L. Paschke, T. A. Ledoux, et J. R. Reel. 1985. « Teratologic evaluation of dinitrotoluene in the Fischer 344 rat ». *Fundamental and Applied Toxicology: Official Journal of the Society of Toxicology* 5 (5) : 948-61. [https://doi.org/10.1016/0272-0590\(85\)90176-9](https://doi.org/10.1016/0272-0590(85)90176-9).
- Reifenrath, William G., Harold O. Kammen, Winifred G. Palmer, Michael M. Major, et Glenn J. Leach. 2002. « Percutaneous absorption of explosives and related compounds: an empirical model of bioavailability of organic nitro compounds from soil ». *Toxicology and Applied Pharmacology* 182 (2) : 160-68. <https://doi.org/10.1006/taap.2002.9436>.
- Rickert, D. E. 1987. « Metabolism of Nitroaromatic Compounds ». *Drug Metabolism Reviews* 18 (1) : 23-53. <https://doi.org/10.3109/03602538708998299>.
- Rickert, D. E., et R. M. Long. 1981. « Metabolism and excretion of 2,4-dinitrotoluene in male and female Fischer 344 rats after different doses. » *Drug Metabolism and Disposition* 9 (3) : 226-32.
- Rickert, D. E., R. M. Long, S. Krakowka, et J. G. Dent. 1981. « Metabolism and excretion of 2,4-[14C]Dinitrotoluene in conventional and axenic Fischer-344 rats ». *Toxicology and Applied Pharmacology* 59 (3) : 574-79. [https://doi.org/10.1016/0041-008x\(81\)90312-4](https://doi.org/10.1016/0041-008x(81)90312-4).
- Rickert, D. E., S. R. Schnell, et R. M. Long. 1983. « Hepatic macromolecular covalent binding and intestinal disposition of [14C]dinitrotoluenes ». *Journal of Toxicology and Environmental Health* 11 (4-6) : 555-67. <https://doi.org/10.1080/15287398309530367>.
- Rickert, D.E., R.M. Long, et R.W. Tyl. 1980. « Urinary excretion and tissue distribution of 14C-2,4-dinitrotoluene in 20-day pregnant Fischer-344 rats ». *Pharmacologist* 22 (3) : No.480.
- Rickert, Douglas E., Byron E. Butterworth, James A. Popp, et David F. Krahn. 1984. « Dinitrotoluene: Acute Toxicity, Oncogenicity, Genotoxicity, and Metabolism ». *CRC Critical Reviews in Toxicology* 13 (3) : 217-34.
- Rothfuss, Andreas, Mike O'Donovan, Marlies De Boeck, Dominique Brault, Andreas Czich, Laura Custer, Shuichi Hamada, et al. 2010. « Collaborative study on fifteen compounds

- in the rat-liver Comet assay integrated into 2- and 4-week repeat-dose studies ». *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 702 (1) : 40-69. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2010.07.006>.
- Sabbioni, Gabriele, Christopher R. Jones, Ovnair Sepai, Ari Hirvonen, Hannu Norppa, Hilikka Järventaus, Hansruedi Glatt, et al. 2006. « Biomarkers of Exposure, Effect, and Susceptibility in Workers Exposed to Nitrotoluenes ». *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 15 (3) : 559-66. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-05-0677>.
- Schut, H. A., T. R. Loeb, L. A. Grimes, et G. D. Stoner. 1983. « Distribution, elimination, and test for carcinogenicity of 2,6-dinitrotoluene after intraperitoneal and oral administration to strain a mice ». *Journal of Toxicology and Environmental Health* 12 (4-6) : 659-70. <https://doi.org/10.1080/15287398309530458>.
- Seidler, Andreas, Thomas Brüning, Dirk Taeger, Matthias Möhner, Katarzyna Gawrych, Annetkatrin Bergmann, Johannes Haerting, Hermann Maximilian Bolt, Kurt Straif, et Volker Harth. 2014. « Cancer incidence among workers occupationally exposed to dinitrotoluene in the copper mining industry ». *International Archives of Occupational and Environmental Health* 87 (2) : 117-24. <https://doi.org/10.1007/s00420-012-0842-9>.
- Soares, E. R., et L. F. Lock. 1980. « Lack of an indication of mutagenic effects of dinitrotoluenes and diaminotoluenes in mice ». *Environmental Mutagenesis* 2 (2) : 111-24. <https://doi.org/10.1002/em.2860020203>.
- Stayner, Leslie T., Andrew L. Dannenberg, Thomas Bloom, et Michael Thun. 1993. « Excess Hepatobiliary Cancer Mortality among Munitions Workers Exposed to Dinitrotoluene ». *Journal of Occupational Medicine* 35 (3) : 291-96.
- Stoner, Gary D., Elizabeth A. Greisiger, Herman A. J. Schut, Michael A. Pereira, Timothy R. Loeb, James E. Klaunig, et Daniel G. Branstetter. 1984. « A comparison of the lung adenoma response in strain A/J mice after intraperitoneal and oral administration of carcinogens ». *Toxicology and Applied Pharmacology* 72 (2) : 313-23. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(84\)90316-8](https://doi.org/10.1016/0041-008X(84)90316-8).
- Styles, J. A., et M. F. Cross. 1983. « Activity of 2,4,6-trinitrotoluene in an in vitro mammalian gene mutation assay ». *Cancer Letters* 20 (1) : 103-8. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(83\)90194-5](https://doi.org/10.1016/0304-3835(83)90194-5).
- Suzuki, Hiroshi, Tadashi Imamura, Akiko Koeda, Kiyoshi Morimoto, Yoshio Wakasa, Yoshihiro Takei, Rie Amemiya, Hirofumi Hatakeyama, Hiroshi Satoh, et Shin-ichi Sato. 2011. « Genotoxicity studies of 2,6-dinitrotoluene (2,6-DNT) ». *The Journal of Toxicological Sciences* 36 (4) : 499-505. <https://doi.org/10.2131/jts.36.499>.
- Suzuki, Hiroshi, Hironao Takasawa, Kazuo Kobayashi, Yukari Terashima, Yasushi Shimada, Izumi Ogawa, Jin Tanaka, Tadashi Imamura, Atsushi Miyazaki, et Makoto Hayashi. 2009. « Evaluation of a liver micronucleus assay with 12 chemicals using young rats (II): a study by the Collaborative Study Group for the Micronucleus Test/Japanese Environmental Mutagen Society–Mammalian Mutagenicity Study Group ». *Mutagenesis* 24 (1) : 9-16. <https://doi.org/10.1093/mutage/gen047>.
- Takasawa, Hironao, Hiroshi Suzuki, Izumi Ogawa, Yasushi Shimada, Kazuo Kobayashi, Yukari Terashima, Hirotaka Matsumoto, et al. 2010. « Evaluation of a liver micronucleus assay in young rats (IV): A study using a double-dosing/single-sampling method by the Collaborative Study Group for the Micronucleus Test (CSGMT)/Japanese Environmental Mutagen Society (JEMS)–Mammalian Mutagenicity Study Group (MMS) ». *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 698 (1) : 24-29. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2010.02.010>.
- Turner, M. J., R. J. Levine, D. D. Nystrom, Y. S. Crume, et D. E. Rickert. 1985. « Identification and quantification of urinary metabolites of dinitrotoluenes in occupationally exposed

- humans ». *Toxicology and Applied Pharmacology* 80 (1) : 166-74. [https://doi.org/10.1016/0041-008x\(85\)90111-5](https://doi.org/10.1016/0041-008x(85)90111-5).
- US EPA. 2006. « Summary Report of the Peer Review Teleconference on Harmonization in Interspecies Extrapolation: Use of BW^{3/4} as Default Method in Derivation of the Oral RfD ». Washington, DC.
- . 2008. « Drinking Water Health Advisory for 2,4-Dinitrotoluene and 2,6-Dinitrotoluene ». Washington, DC : United States Environmental Protection Agency. https://www.epa.gov/sites/default/files/2014-09/documents/drinking_water_health_advisory_for_24_and_26_dinitrotoluene.pdf.
- . 2013. « Provisional Peer-Reviewed Toxicity Values for 2,6-Dinitrotoluene ». US EPA.
- Vernot, E. H., J. D. MacEwen, C. C. Haun, et E. R. Kinkead. 1977. « Acute toxicity and skin corrosion data for some organic and inorganic compounds and aqueous solutions ». *Toxicology and Applied Pharmacology* 42 (2) : 417-23. [https://doi.org/10.1016/0041-008x\(77\)90019-9](https://doi.org/10.1016/0041-008x(77)90019-9).
- Wiedenfeld, H. 2014. « Pyrrolizidine Alkaloids ». Dans *Encyclopedia of Toxicology*. , Third edition. Philip Wexler.
- Woollen, B. H., M. G. Hall, R. Craig, et G. T. Steel. 1985. « Dinitrotoluene: an assessment of occupational absorption during the manufacture of blasting explosives ». *International Archives of Occupational and Environmental Health* 55 (4) : 319-30. <https://doi.org/10.1007/BF00377690>.
- Yang, Li, Jing-bo Xu, Lin Zhen, Zhi-wei Sun, Long Shi, Ming-hua Jin, et Xiao-mei Liu. 2005. « DNA damage of germ cell of rat induced by nitrotoluene chemicals ». *Journal of Environmental Sciences (China)* 17 (1) : 84-90.

9.2 Normes

AFNOR. 2003. NF X 50-110 *Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise*. AFNOR (indice de classement X 50-110).

ANNEXES

Annexe 1 : Lettre de saisine



2022-SA-0217

Direction générale de
la santé

SOUS-DIRECTION PREVENTION DES RISQUES LIES
A L'ENVIRONNEMENT ET A L'ALIMENTATION
BUREAU QUALITE DES EAUX
DGS-EA4 n° 96
Affaire suivie par : Nathalie FRANQUES / Sylvie MALLET
Tél. : 01.40.56.69.18
Mèl. : nathalie.franques@sante.gouv.fr

Paris, le 17 NOV. 2022

Nos réf. : D. 22-023455

Le Directeur général de la santé

à

Monsieur le Directeur général de
l'Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'environnement, de l'alimentation et
du travail
Direction de l'Evaluation des Risques
(DER) - UERE

Objet : Demande d'évaluation des risques sanitaires liés à la présence de dérivés du dinitrotoluène dans les eaux destinées à la consommation humaine

N/Réf. : DGS EA4 N° 220007 (numéro de dossier à rappeler dans toute correspondance)

La Direction générale de la santé (DGS) a confié au laboratoire d'hydrologie de Nancy (LHN) de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'environnement, de l'alimentation et du travail (Anses) la réalisation d'une campagne nationale exploratoire entre 2020 et 2022, sur les eaux brutes et les eaux traitées afin de caractériser la présence de pesticides et métabolites de pesticides, de résidus d'explosifs et du 1,4 dioxane au niveau national. Les résultats de cette campagne seront publiés dans les prochains mois. Cependant, les résultats d'ores et déjà disponibles montrent la présence, à des concentrations supérieures aux limites de quantification, de plusieurs dérivés du dinitrotoluène, en particulier le 2,3 dinitrotoluène (n° CAS : 602-01-7), 2,6 dinitrotoluène (n° CAS : 606-20-2) et 3,4 dinitrotoluène (n° CAS : 610-39-9).

Les dérivés du dinitrotoluène font partie des 50 résidus d'explosifs intégrés dans la campagne du LHN. La recherche de ces résidus d'explosifs dans les eaux destinées à la consommation humaine s'est avérée nécessaire suite aux différents travaux et campagnes d'analyses réalisés autour de l'ion perchlorate et de la contamination de certains sites historiques par des constituants de munitions (en lien avec la première guerre mondiale). La campagne a ciblé en particulier des sites à proximité de sites industriels dans le domaine de l'armement et des explosifs ou d'anciens sites de stockage de munitions ou de désobusage.

A ce jour, ces paramètres ne font pas partie des paramètres couverts par la réglementation nationale pour les EDCH et ils ne sont généralement pas recherchés dans le cadre du contrôle sanitaire des eaux mis en œuvre par les ARS en application du code de la santé publique, à moins que l'ARS ait renforcé le contrôle sanitaire au titre de l'article R.1321-17 du CSP.

Dans ce contexte, je vous demande de bien vouloir réaliser une évaluation des risques sanitaires liés à la présence de ces dérivés du dinitrotoluène dans les EDCH et de déterminer une valeur guide sanitaire.

14 avenue Duquesne – 75350 Paris 07 SP
Tél. 01 40 56 60 00 - www.social-sante.gouv.fr

Le traitement de vos données est nécessaire à la gestion de votre demande et entre dans le cadre des missions confiées aux ministères sociaux. Conformément au règlement général sur la protection des données (RGPD), vous pouvez exercer vos droits à l'adresse dgs-rgpd@sante.gouv.fr ou par voie postale. Pour en savoir plus : <https://solidarites-sante.gouv.fr/ministere/article/sonnees-personnelles-et-cookies>

A toutes fins utiles, les éventuels résultats du suivi de la qualité de l'eau brute et de l'EDCH vis-à-vis de ces paramètres et disponibles dans la base de données « SISE-Eaux d'alimentation » seront transmis par courriel à l'unité d'évaluation des risques liés à l'eau.

Le dossier est enregistré par mes services sous le numéro DGS/EA4 N° 220007 et intitulé comme suit :

**DEMANDE D'EVALUATION DES RISQUES SANITAIRES LIES A LA PRESENCE DE DERIVES DU
DINITROTOLUENE DANS LES EAUX DESTINEES A LA CONSOMMATION HUMAINE**

Cette expertise devrait être inscrite dans le programme de travail 2023 de l'Anses.

Je vous remercie de bien vouloir me transmettre votre proposition de contrat d'expertise comprenant notamment les modalités de traitement et de restitution des travaux, dont le rendu final est attendu pour le 30 juin 2024.

Jérôme SALOMON



Annexe 2 : Recherche bibliographique

La recherche bibliographique a été réalisée à partir des bases de données PubMed et Scopus entre octobre 2023 et avril 2024. Les requêtes bibliographiques sont décrites dans le Tableau 41.

Tableau 41 : Requêtes bibliographiques

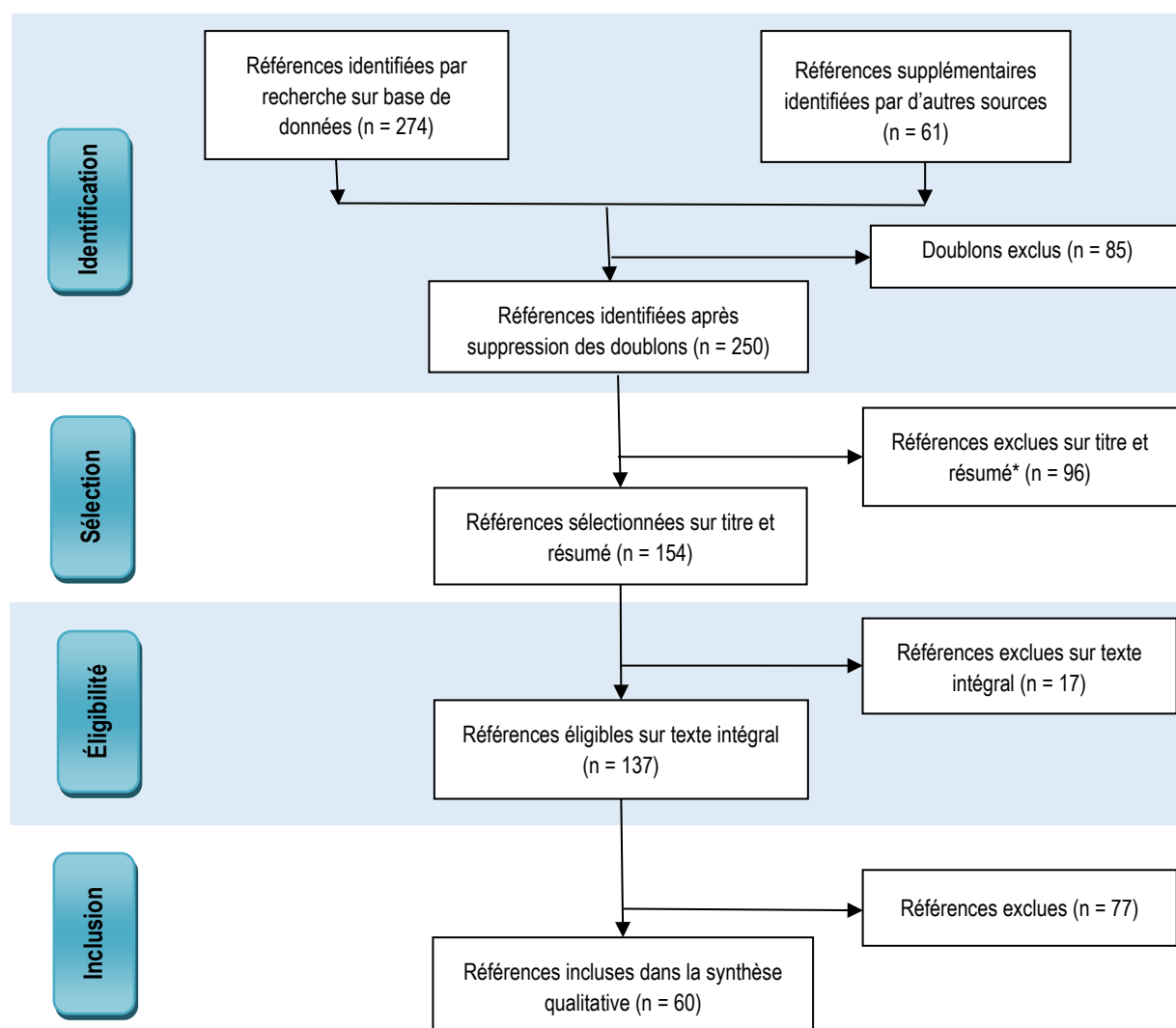
Moteurs de recherche	Date de la recherche	Requête	Nombre de référence identifié (sans doublon)	Remarques
PubMed	24/10/2023	dinitrotoluene[title/abstract]	955	Requête très générale pour estimer le volume de publications sur le sujet
PubMed	25/10/2023	dinitrotoluene[title/abstract] AND toxicity[title/abstract]	93	
PubMed	25/10/2023	(dinitrotoluene[title/abstract] OR DNT[title/abstract]) AND toxicity [title/abstract] AND (rats[title/abstract] OR mice[title/abstract])	36	Requête visant à identifier les études <i>in vivo</i> existantes
Scopus	25/10/2023	TITLE-ABS (dinitrotoluene OR dnt) AND TITLE-ABS (toxicity)	267	Le mot-clé « DNT » correspond aussi à d'autres termes (« double-negative T », « developmental neurotoxicity »...)
Scopus	25/10/2023	TITLE-ABS (dinitrotoluene) AND TITLE-ABS (toxicity)	144	
Scopus	26/10/2023	TITLE (dinitrotoluene) AND TITLE-ABS (toxicity)	64	
PubMed	26/10/2023	(dinitrotoluene[title/abstract] OR DNT[title/abstract]) AND toxicity [title/abstract]	208	Le mot-clé « DNT » correspond à d'autres termes que le dinitrotoluène
PubMed	07/11/2023	dinitrotoluene*[title/abstract] AND (rat[title/abstract] OR rats[title/abstract] OR mouse[title/abstract] OR mice[title/abstract])	127	Requête visant à identifier les études <i>in vivo</i> existantes

Scopus	16/11/2023	TITLE (dinitrotoluene)	638	Requête générale pour estimer le volume de publications sur le sujet
Scopus	16/11/2023	TITLE (dinitrotoluene) AND (TITLE (cancer) OR TITLE (tumor))	5	Requête visant à identifier les études spécifiques de cancérogenèse
PubMed	20/11/2023	("2,3-dinitrotoluene" [Supplementary Concept] OR "2,4-dinitrotoluene" [Supplementary Concept] OR "2,6-dinitrotoluene" [Supplementary Concept] OR "3,4-dinitrotoluene" [Supplementary Concept]) AND "adverse effects" [Subheading] AND "Mammals"[Mesh]	64	Identification des études <i>in vivo</i> à partir des termes du MeSH
Scopus	23/11/2023	TITLE (dinitrotoluene) AND PUBYEAR > 1969 AND PUBYEAR < 2024 AND (LIMIT-TO (SUBJAREA , "PHAR") OR LIMIT-TO (SUBJAREA , "MEDI") OR LIMIT-TO (SUBJAREA , "IMMU"))	185	Recherche à partir des aires thématiques de Scopus
PubMed	23/11/2023	"2,3-dinitrotoluene" [Supplementary Concept] OR "2,4-dinitrotoluene" [Supplementary Concept] OR "2,6-dinitrotoluene" [Supplementary Concept] OR "3,4-dinitrotoluene" [Supplementary Concept]	365	Identification générale des études à partir des termes du MeSH
PubMed	23/11/2023	("2,3-dinitrotoluene" [Supplementary Concept] OR "2,4-dinitrotoluene" [Supplementary Concept] OR "2,6-dinitrotoluene" [Supplementary Concept] OR "3,4-dinitrotoluene" [Supplementary Concept]) AND "adverse effects" [Subheading]	95	
PubMed	03/04/2024	2,4-dinitrotoluene [Supplementary Concept] OR "2,3-dinitrotoluene" [Supplementary Concept] OR "3,4-dinitrotoluene" [Supplementary Concept] OR "2,6-dinitrotoluene" [Supplementary Concept] OR "3,5-dinitrotoluene" [Supplementary Concept]	367	Recherche d'éventuelles nouvelles publications → absence de nouveautés
PubMed	03/04/2024	("2,3-dinitrotoluene" [Supplementary Concept] OR "2,4-dinitrotoluene" [Supplementary Concept] OR "2,6-dinitrotoluene" [Supplementary Concept] OR "3,4-dinitrotoluene" [Supplementary Concept] OR "3,4-dinitrotoluene" [Supplementary Concept] OR dinitrotoluene [Text Word]) AND "adverse effects" [Subheading] AND "Mammals"[Mesh]	116	

Les publications d'intérêt ont été identifiées sur la base du titre et du résumé. Les publications ont été sélectionnées pour inclusion dans les étapes suivantes après examen du texte intégral. Seules les références publiées en anglais ou en français ont été considérées.

Le tri et la sélection des références obtenues à partir des requêtes a été réalisée sur la plateforme en libre accès Rayyan (Ouzzani *et al.* 2016). L'outil Rayyan propose trois modalités de décision : « inclus », « exclus » et « peut-être ». La sélection sur le titre et le résumé a été faite en simple lecture par deux coordinateurs Anses, à la suite d'un test préalable sur 30 références évaluées en double lecture. Un taux de convergence supérieur à 80 % dans les décisions (« inclus », « exclus » et « peut-être ») était retrouvé. Les références classées « peut-être » étaient rediscutées entre les deux coordinateurs afin d'obtenir un consensus sur l'inclusion ou l'exclusion.

Après lecture du texte intégral, **60 références retenues constituent le corpus d'études utilisé par la suite pour réaliser le profil toxicologique** (Figure 13).



* si utile, préciser les raisons d'exclusions ou encore le nombre de références exclues par raison d'exclusion

** si pertinent selon les besoins de la méthode d'expertise, rapporter le nombre d'études à la place du nombre de références

*** expliciter s'il s'agit d'une synthèse qualitative ou quantitative ou éventuellement deux synthèses séparées.

Figure 13 : Diagramme de flux¹¹

¹¹ D'après Gedda M. (2015). Traduction française des lignes directrices PRISMA pour l'écriture et la lecture des revues systématiques et des méta-analyses. *Kinésithérapie* 15(157):39-44. [doi:10.1016/j.kine.2014.11.004](https://doi.org/10.1016/j.kine.2014.11.004)

Annexe 3 : Résumé des tests de génotoxicité *in vitro* des isomères du DNT (d'après ATSDR 2016)

Isomère	Espèce	End point	Résultat		Référence
			Avec activation	Sans activation	
2,3-DNT	<i>Salmonella typhimurium</i> , TA98	Mutation génétique	+	+	Couch <i>et al.</i> 1981
	<i>S. typhimurium</i> , TM677	Mutation génétique	-	-	Couch <i>et al.</i> 1981
	<i>S. typhimurium</i> , TA98, TA100	Mutation génétique	-	-	Dellarco <i>et al.</i> 1989
	<i>S. typhimurium</i> , TA98; avec FMN	Mutation génétique (test modifié)	+	NT	Dellarco <i>et al.</i> 1989
	<i>S. typhimurium</i> , TA100; avec FMN	Mutation génétique (test modifié)	-	NT	Dellarco <i>et al.</i> 1989
	<i>S. typhimurium</i> , TA98	Mutation génétique	-	+	Spanggord <i>et al.</i> 1982b
	<i>S. typhimurium</i> , TA100	Mutation génétique	+	+	Spanggord <i>et al.</i> 1982b
	<i>S. typhimurium</i> , TA1538	Mutation génétique	-	+	Spanggord <i>et al.</i> 1982b
	<i>S. typhimurium</i> , TA1535, TA1537, TA100 NR3	Mutation génétique	-	-	Spanggord <i>et al.</i> 1982b
	<i>S. typhimurium</i> , TA100	Mutation génétique	±	-	Kawai <i>et al.</i> 1987
	<i>S. typhimurium</i> , TA98	Mutation génétique	-	±	Kawai <i>et al.</i> 1987
2,4-DNT	<i>S. typhimurium</i> , TA98, TM677	Mutation génétique	+	+	Couch <i>et al.</i> 1981
	<i>S. typhimurium</i>	Mutation génétique	NT	-	Chiu <i>et al.</i> 1978
	<i>S. typhimurium</i> , TA98, TA100	Mutation génétique	-	+	Tokiwa <i>et al.</i> 1981
	<i>S. typhimurium</i> , TA98, TA100	Mutation génétique	-	-	Dellarco <i>et al.</i> 1989
	<i>S. typhimurium</i> , TA98; avec FMN	Mutation génétique (test modifié)	+	NT	Dellarco <i>et al.</i> 1989
	<i>S. typhimurium</i> , TA100; avec FMN	Mutation génétique (test modifié)	-	NT	Dellarco <i>et al.</i> 1989
	<i>S. typhimurium</i>	Mutation génétique	NT	+	Mori <i>et al.</i> 1982
	<i>S. typhimurium</i> , TA100	Mutation génétique	-	+	Spanggord <i>et al.</i> 1982b
	<i>S. typhimurium</i> , TA100 NR3	Mutation génétique	+	-	Spanggord <i>et al.</i> 1982b

	<i>S. typhimurium</i> , TA1535, TA1537, TA1538, TA98	Mutation génétique	-	-	Spanggord <i>et al.</i> 1982b
	<i>S. typhimurium</i> , TA100	Mutation génétique	+	-	US Army 1978a
	<i>S. typhimurium</i> , TA1535	Mutation génétique	-	+	US Army 1978a
	<i>S. typhimurium</i> , TA98, 1537	Mutation génétique	-	-	US Army 1978a
	<i>S. typhimurium</i> , TA1538	Mutation génétique	+	+	US Army 1978a
	<i>S. typhimurium</i>	Mutation génétique	+	NT	Pearson <i>et al.</i> 1978
	<i>S. typhimurium</i> , TA98, TA98 NR, TA98/8-DNP ₆ , YG1021, YG1024	Mutation génétique	NT	+	Einistö <i>et al.</i> 1991
	<i>S. typhimurium</i> , TA100	Mutation génétique	±	±	Kawai <i>et al.</i> 1987
	<i>S. typhimurium</i> , TA98	Mutation génétique	-	-	Kawai <i>et al.</i> 1987
	<i>S. typhimurium</i> , TA100	Mutation génétique	NT	-	Padda <i>et al.</i> 2003
	<i>S. typhimurium</i> , TA98,	Mutation génétique	NT	-	Sayama <i>et al.</i> 1998
	<i>S. typhimurium</i> , TA100 YG1021, YG1024, YG1041, YG1026, YG1029, YG1042	Mutation génétique	NT	+	Sayama <i>et al.</i> 1998
	<i>Escherichia coli</i>	Mutation génétique	-	-	Dunkel <i>et al.</i> 1985
	<i>S. typhimurium</i> , NM2009, NM3009	Dommmages à l'ADN (test umu)	NT	+	Öztürk <i>et al.</i> 1999
	<i>E. coli</i> , PQ37	Dommmages à l'ADN (SOS chromotest)	-	-	Öztürk <i>et al.</i> 1999
2,5-DNT	<i>S. typhimurium</i> , TA98, TM677	Mutation génétique	+	+	Couch <i>et al.</i> 1981
	<i>S. typhimurium</i> , TA98	Mutation génétique	±		Dellarco <i>et al.</i> 1989
	<i>S. typhimurium</i> , TA100	Mutation génétique	-	-	Dellarco <i>et al.</i> 1989
	<i>S. typhimurium</i> , TA98; avec FMN	Mutation génétique (test modifié)	+	NT	Dellarco <i>et al.</i> 1989
	<i>S. typhimurium</i> , TA100; avec FMN	Mutation génétique (test modifié)	-	NT	Dellarco <i>et al.</i> 1989
	<i>S. typhimurium</i> , TA1535, TA1538, TA98, TA100	Mutation génétique	+	+	Spanggord <i>et al.</i> 1982b
	<i>S. typhimurium</i> , TA1537, TA100 NR3	Mutation génétique	-	-	Spanggord <i>et al.</i> 1982b
2,6-DNT	<i>S. typhimurium</i> , TA98, TM677	Mutation génétique	+	+	Couch <i>et al.</i> 1981

<i>S. typhimurium</i> , TA100, TA1535, TA1537, TA98	Mutation génétique	-	-	US Army 1978a
<i>S. typhimurium</i> , TA1538	Mutation génétique	-	+	US Army 1978a
<i>S. typhimurium</i>	Mutation génétique	NT	+	Simmon <i>et al.</i> 1977
<i>S. typhimurium</i> , TA98, TA100	Mutation génétique	-	-	Sayama <i>et al.</i> 1989
<i>S. typhimurium</i> , TA98,	Mutation génétique	-	+	Tokiwa <i>et al.</i> 1981
<i>S. typhimurium</i> , TA100	Mutation génétique	+	+	Spanggord <i>et al.</i> 1982b
<i>S. typhimurium</i> , TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100 NR3	Mutation génétique	-	-	Spanggord <i>et al.</i> 1982b
<i>S. typhimurium</i> , TA98, TA100	Mutation génétique	-	-	Dellarco <i>et al.</i> 1989
<i>S. typhimurium</i> , TA98; avec FMN	Mutation génétique (test modifié)	+	NT	Dellarco <i>et al.</i> 1989
<i>S. typhimurium</i> , TA100; avec FMN	Mutation génétique (test modifié)	-	NT	Dellarco <i>et al.</i> 1989
<i>S. typhimurium</i> , TA98, TA100, TA1537	Mutation génétique	+	+	Suzuki <i>et al.</i> 2011
<i>S. typhimurium</i> , TA98, TA98/1,8-DNP, YG1021, YG1024	Mutation génétique	NT	+	Einistö <i>et al.</i> 1991
<i>S. typhimurium</i> , TA98 NR	Mutation génétique	+	-	Einistö <i>et al.</i> 1991
<i>S. typhimurium</i>	Mutation génétique	+	NT	Pearson <i>et al.</i> 1979
<i>S. typhimurium</i> , TA98, TA100	Mutation génétique	±	±	Kawai <i>et al.</i> 1987
<i>S. typhimurium</i> , TA100	Mutation génétique	NT	-	Padda 2003
<i>S. typhimurium</i> , TA98, TA100 YG1021,	Mutation génétique	NT	-	Sayama <i>et al.</i> 1998
<i>S. typhimurium</i> , YG1024, YG1041, YG1026, YG1029, YG1042	Mutation génétique	NT	+	Sayama <i>et al.</i> 1998
3,4-DNT <i>S. typhimurium</i> , TA100	Mutation génétique	+	+	Kawai <i>et al.</i> 1987
<i>S. typhimurium</i> , TA98	Mutation génétique	-	-	Kawai <i>et al.</i> 1987
<i>S. typhimurium</i> , TA100	Mutation génétique	+	+	Spanggord <i>et al.</i> 1982b
<i>S. typhimurium</i> , TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100 NR3	Mutation génétique	-	-	Spanggord <i>et al.</i> 1982b
<i>S. typhimurium</i> , TA98	Mutation génétique	-	-	Tokiwa <i>et al.</i> 1981

	<i>S. typhimurium</i> , TA100	Mutation génétique	-	+	Tokiwa <i>et al.</i> 1981
3,5-DNT	<i>S. typhimurium</i> , TA98, TM677	Mutation génétique	+	+	Couch <i>et al.</i> 1981
	<i>S. typhimurium</i> , TA1537, TA1538, TA98, TA100	Mutation génétique	+	+	Spanggord <i>et al.</i> 1982b
	<i>S. typhimurium</i> , TA1535, TA100 NR3	Mutation génétique	-	-	Spanggord <i>et al.</i> 1982b
Tg-DNT	<i>S. typhimurium</i> , TA98, TM677	Mutation génétique	+	+	Couch <i>et al.</i> 1981
	<i>S. typhimurium</i>	Mutation génétique	NT	+	Chadwick <i>et al.</i> 1990

FMN : flavine mononucléotide ; NT : non testé

Annexe 4 : Grille ToxRTool d'évaluation de l'étude de Ellis *et al.* 1979 chez le chien Beagle

Reliability assessment of in vivo toxicity studies		
Study under evaluation		
Authors:		
Ellis		
Titel:		
Mammalian Toxicity of Munitions Compounds. Phase III: Effects of Life-Time Exposure. Part I: 2,4-Dinitrotoluene		
Testing facility, year, sponsor, study no. or bibliographic reference:		
1979		
Explanations are available for most criteria and show up, when the cursor is moved over the criteria field. Please read carefully! Red criteria: the maximum score is needed for these criteria to achieve reliability category 1 or 2 (see worksheet Explanations): Please evaluate with special care!		
Criteria		Evaluator's explanations, comments on criteria, etc.
No.	Criteria Group I: Test substance identification	Score
1	Was the test substance identified?	1
2	Is the purity of the substance given?	1
3	Is information on the source/origin of the substance given?	1
4	Is all information on the nature and/or physico-chemical properties of the test item given, which you deem indispensable for judging the data (see explanation for examples)?	1
		4
Criteria Group II: Test organism characterisation		
5	Is the species given?	1
6	Is the sex of the test organism given?	1
7	Is information given on the strain of test animals plus, if considered necessary to judge the study, other specifications (see explanation for examples)?	1
8	Is age or body weight of the test organisms at the start of the study given?	1
9	For repeated dose toxicity studies only (give point for other study types): Is information given on the housing or feeding conditions?	1
		5
Criteria Group III: Study design description		
10	Is the administration route given?	1
11	Are doses administered or concentrations in application media given?	1
12	Are frequency and duration of exposure as well as time-points of observations explained?	1
13	Were negative (where required) and positive controls (where required) included (give point also, when absent but not required, see explanations for study types and their respective requirements on controls)?	1
14	Is the number of animals (in case of experimental human studies: number of test persons) per group given?	1
15	Are sufficient details of the administration scheme given to judge the study (see explanation for examples)?	1
16	For inhalation studies and repeated dose toxicity studies only (give point for other study types): Were achieved concentrations analytically verified or was stability of the test substance otherwise ensured or made plausible?	0
		6
Criteria Group IV: Study results documentation		
17	Are the study endpoint(s) and their method(s) of determination clearly described?	1
18	Is the description of the study results for all endpoints investigated transparent and complete?	1
19	Are the statistical methods applied for data analysis given and applied in a transparent manner (give also point, if not necessary/applicable, see explanations)?	1
		3
Criteria Group V: Plausibility of study design and results		
20	Is the study design chosen appropriate for obtaining the substance-specific data aimed at (see explanations for details)?	1
21	Are the quantitative study results reliable (see explanations for arguments)?	1
		2
		20
	A Numerical result leads to initial Category:	1
	B Checking red scores leads to revised Category:	1
	C Evaluator's proposal: Category:	1
	D Justification in case evaluator deviates from B:	

Annexe 5 : Grille d'évaluation du niveau de confiance de la VTR orale long terme à seuil pour le 2,4-DNT à partir de l'étude de Ellis et al. (1979) chez le chien Beagle

Substance		2,4-DNT
N° CAS		121-14-2
Type de VTR		
		VTR long terme par voie orale
VR	Organisme constructeur	Anses
	Année	2024
	Nom	VTR long terme par voie orale
	Valeur	0,003 mg/kg pc/j
Effet critique		baisse du compte des hématies
Etude clé	Référence	Ellis et al. 1979
	Population de l'étude, espèce	Animal
	Exposition (durée, voie)	
PoD		BMDL = 0,129 mg/kg pc/j
Ajustement temporel		
Ajustement allométrique		BMDL(HED) = 0,0772 mg/kg pc/j
Facteurs d'incertitude (FI)		FI = 25 (Fla : 2,5 ; Flh : 10)
Read-across		non



Outil de fixation
des niveaux de confiance
pour les VTR à seuil

		GT		
		Date de l'évaluation : 04/06/2024		
		Niveau de confiance	Argumentation du GT	
Corpus de données	Quantité et qualité pour la voie et la durée considérée	4	batterie d'études tox avec aigue, subchronique, chronique, cancéro, peu études épidémiologie, études tox anciennes	
Choix de l'effet critique	Caractère néfaste de l'effet	2		
	Convergence des études	3	effet critique observé chez différentes espèces mais par la même équipe	
	Transposabilité Animal --> Homme et MoA (mode d'action)	3		
	Confiance pour le critère "choix de l'effet critique"	2,7		
Hypothèse de construction	À seuil par défaut			
Choix de l'étude (ou des études) clé	Qualité de l'étude	5		
	Voie exposition	5		
	Durée	5		
	Confiance pour le critère "choix de l'étude clé"	5,0		
Choix du PoD	BMD/BMDL, couple NOAEL/LOAEL, NOAEL seul ou LOAEL seul, fonction Exposition-Risque (E-R)	BMD/BMDL	4	BMR par défaut
Ajustements	Temporel			
	Allométrique	Ajustement avec valeurs des coefficients basées sur les connaissances	3	
Choix FI	FI _A			
	FI _H		1	
	FI _L			
	FI _S			
	FI _O			
LIGNES MASQUEES	si C11 = Homme	somme	19,3	
		niveau	3,2	
	si C11 = Animal	somme	22,3	
		niveau	3,2	
Niveaux de confiance	Niveau de confiance global	valeur	3,2	
		Niveau	Moyen	

Annexe 6 : Grille ToxRTool d'évaluation de l'étude de Lee *et al.* 1976

Reliability assessment of in vivo toxicity studies		
Study under evaluation		
Authors:		
Lee et al.		
Titel:		
Mammalian Toxicity of Munitions Compounds. Phase II: Effects of Multiple Doses. Part III: 2,6-Dinitrotoluene		
Testing facility, year, sponsor, study no. or bibliographic reference:		
1976		
Explanations are available for most criteria and show up, when the cursor is moved over the criteria field. Please read carefully! Red criteria: the maximum score is needed for these criteria to achieve reliability category 1 or 2 (see worksheet Explanations): Please evaluate with special care!		
Criteria		Evaluator's explanations, comments on criteria, etc.
No.	Criteria Group I: Test substance identification	Score
1	Was the test substance identified?	1 2,6-DNT
2	Is the purity of the substance given?	0
3	Is information on the source/origin of the substance given?	1 K and K Laboratories (Cleveland, OH)
4	Is all information on the nature and/or physico-chemical properties of the test item given, which you deem indispensable for judging the data (see explanation for examples)?	1
		3
Criteria Group II: Test organism characterisation		
5	Is the species given?	1 CD® rats
6	Is the sex of the test organism given?	1 Female and male
7	Is information given on the strain of test animals plus, if considered necessary to judge the study, other specifications (see explanation for examples)?	1
8	Is age or body weight of the test organisms at the start of the study given?	1
9	For repeated dose toxicity studies only (give point for other study types): Is information given on the housing or feeding conditions?	1 10 air changes per hour, filters to remove particles larger than 0.3 µ, temperature maintained at 75 ± 5 °F, humidity at 50 ± 10%, 12-hour light cycle
		5
Criteria Group III: Study design description		
10	Is the administration route given?	1 Oral route (capsule)
11	Are doses administered or concentrations in application media given?	1 0.01, 0.05 or 0.25 % of 2,6-DNT in the feed
12	Are frequency and duration of exposure as well as time-points of observations explained?	1 daily, 13 weeks
13	Were negative (where required) and positive controls (where required) included (give point also, when absent but not required, see explanations for study types and their respective requirements on controls)?	1 4th group, serving as controls, without 2,6-DNT
14	Is the number of animals (in case of experimental human studies: number of test persons) per group given?	1 Four groups, each consisting of 16 males and 16 females
15	Are sufficient details of the administration scheme given to judge the study (see explanation for examples)?	1
16	For inhalation studies and repeated dose toxicity studies only (give point for other study types): Were achieved concentrations analytically verified or was stability of the test substance otherwise ensured or made plausible?	0
		6
Criteria Group IV: Study results documentation		
17	Are the study endpoint(s) and their method(s) of determination clearly described?	1
18	Is the description of the study results for all endpoints investigated transparent and complete?	1
19	Are the statistical methods applied for data analysis given and applied in a transparent manner (give also point, if not necessary/applicable, see explanations)?	1
		3
Criteria Group V: Plausibility of study design and results		
20	Is the study design chosen appropriate for obtaining the substance-specific data aimed at (see explanations for details)?	1 The chosen species, number of animals per group, number of groups are adequate
21	Are the quantitative study results reliable (see explanations for arguments)?	1
		2
		19
	A Numerical result leads to initial Category:	1
	B Checking red scores leads to revised Category:	1
	C Evaluator's proposal: Category:	1
	D Justification in case evaluator deviates from B:	

Annexe 7 : Grille d'évaluation du niveau de confiance de la VTR orale long terme à seuil pour le 2,6-DNT à partir de l'étude de Lee *et al.* (1976)

Substance		2,6-DNT
N° CAS		606-20-2
Type de VTR		
		VTR long terme par voie orale
VR	Organisme constructeur	Anses
	Année	2024
	Nom	VTR long terme par voie orale
	Valeur	0,003 mg/kg pc/j
Effet critique		
		Hématopoièse extramédullaire
Etude clé	Référence	Lee <i>et al.</i> , 1976
	Population de l'étude, espèce	Animal
	Exposition (durée, voie)	Orale (gélules), 13 semaines
PoD	LOAEL = 4 mg/kg pc/j	
Ajustement temporel		
Ajustement allométrique		
		LOAEL(HED) = 2,510 mg/kg pc/j
Facteurs d'incertitude (FI)		
		FI = 790 (FIA : 2,5, FIH-TK : 10, FIL : V10, FIS : V10, FID : V10)
Read-across		
		non



anses

Outil de fixation
des niveaux de confiance
pour les VTR à seuil

		GT	
		Date de l'évaluation : 04/06/2024	
		Niveau de confiance	Argumentation du GT
Corpus de données	Quantité et qualité pour la voie et la durée considérée	3	batterie d'études tox avec aigue, subchronique, chronique, cancéro, peu études épidémi, études tox anciennes, une seule étude long terme
Choix de l'effet critique	Caractère néfaste de l'effet	3	
	Convergence des études	3	effet critique observé chez différentes espèces mais par la même équipe
	Transposabilité Animal → Homme et MoA (mode d'action)	3	
	Confiance pour le critère "choix de l'effet critique"	3,0	
Hypothèse de construction	À seuil par défaut		
Choix de l'étude (ou des études) clé	Qualité de l'étude	5	
	Voie exposition	5	
	Durée	3	Moyen terme, mais suffisant pour mettre l'HED en évidence
	Confiance pour le critère "choix de l'étude clé"	4,3	
Choix du PoD	BMD/BMDL, couple NOAEL/LOAEL, NOAEL seul ou LOAEL seul, fonction Exposition-Risque (E-R)	fonction E-R faible ou NOAEL ou LOAEL	1 LOAEL seul
Ajustements	Temporel		
	Allométrique	ajustement avec valeurs des coefficients basées sur les données animales	3
Choix FI	FI _A		
	FI _H	1	
	FI _L		
	FI _S		
	FI _D		
LIGNES MASQUEES	si C11 = Homme	somme	15,3
		niveau	2,6
	si C11 = Animal	somme	18,3
		niveau	2,6
Niveaux de confiance	Niveau de confiance global	valeur	2,6
		Niveau	Moyen-faible

Annexe 8 : Grille ToxRTool d'évaluation de l'étude de Ellis *et al.* 1979 chez le rat

Reliability assessment of in vivo toxicity studies		
Study under evaluation		
Authors:		
Ellis et al.		
Titel:		
Mammalian Toxicity of Munitions Compounds. Phase III: Effects of Life-Time Exposure. Part I: 2,4-Dinitrotoluene		
Testing facility, year, sponsor, study no. or bibliographic reference:		
1979		
Explanations are available for most criteria and show up, when the cursor is moved over the criteria field. Please read carefully!		
Red criteria: the maximum score is needed for these criteria to achieve reliability category 1 or 2 (see worksheet Explanations): Please evaluate with special care!		
Criteria		Evaluator's explanations, comments on criteria, etc.
No.	Criteria Group I: Test substance identification	Score
1	Was the test substance identified?	1
2	Is the purity of the substance given?	1
3	Is information on the source/origin of the substance given?	1
4	Is all information on the nature and/or physico-chemical properties of the test item given, which you deem indispensable for judging the data (see explanation for examples)?	1
		4
Criteria Group II: Test organism characterisation		
5	Is the species given?	1
6	Is the sex of the test organism given?	1
7	Is information given on the strain of test animals plus, if considered necessary to judge the study, other specifications (see explanation for examples)?	1
8	Is age or body weight of the test organisms at the start of the study given?	1
9	For repeated dose toxicity studies only (give point for other study types): Is information given on the housing or feeding conditions?	1
		5
Criteria Group III: Study design description		
10	Is the administration route given?	1
11	Are doses administered or concentrations in application media given?	1
12	Are frequency and duration of exposure as well as time-points of observations explained?	1
13	Were negative (where required) and positive controls (where required) included (give point also, when absent but not required, see explanations for study types and their respective requirements on controls)?	1
14	Is the number of animals (in case of experimental human studies: number of test persons) per group given?	1
15	Are sufficient details of the administration scheme given to judge the study (see explanation for examples)?	1
16	For inhalation studies and repeated dose toxicity studies only (give point for other study types): Were achieved concentrations analytically verified or was stability of the test substance otherwise ensured or made plausible?	0
Criteria Group IV: Study results documentation		
17	Are the study endpoint(s) and their method(s) of determination clearly described?	1
18	Is the description of the study results for all endpoints investigated transparent and complete?	1
19	Are the statistical methods applied for data analysis given and applied in a transparent manner (give also point, if not necessary/applicable, see explanations)?	1
		3
Criteria Group V: Plausibility of study design and results		
20	Is the study design chosen appropriate for obtaining the substance-specific data aimed at (see explanations for details)?	1
21	Are the quantitative study results reliable (see explanations for arguments)?	1
		2
		20
A Numerical result leads to initial Category:		1
B Checking red scores leads to revised Category:		1
C Evaluator's proposal: Category:		1
D Justification in case evaluator deviates from B:		

Annexe 9 : Grille d'évaluation du niveau de confiance de la VTR orale long terme sans seuil pour le 2,4-DNT à partir de l'étude de Ellis *et al.* (1979) chez le rat

Substance		2,4-DNT
N° CAS		121-14-2
Type de VTR		
Organisme constructeur		Anses
Année		2024
Nom		ERU
Valeur		0,13 (mg.kg ⁻³ pc.j ⁻¹) ⁻¹
Effet critique		
Référence		Carcinome hépatocellulaires et nodules néoplasiques Ellis <i>et al.</i> 1979
Population de l'étude, espèce		Animal
Exposition (durée, voie)		Orale, au moins 1 an
PoD		
Ajustement temporel		BMDL ₁₀ = 2,91 mg/kg pc/j
Ajustement allométrique		BMDL _{10ED} = 0,79 mg/kg pc/j
Construction		
Read-across		non



Outil de fixation
des niveaux de confiance
pour les VTR à seuil

		GT	
		Date de l'évaluation : 04/06/2024	
		Niveau de confiance	Argumentation du GT
Corpus de données	Quantité et qualité pour la voie et la durée considérée	4	Matériel d'études tox avec aiguë, subchronique, chronique, cancéro,...
Choix de l'effet critique	Caractère néfaste de l'effet	5	Lésions cancéreuses
	Convergence des études	3	Effets observés chez plusieurs espèces, mais par la même équipe
	Transposabilité Animal --> Homme et MoA (mode d'action)	3	Plausible chez l'Homme
	Confiance pour le critère "choix de l'effet critique"	3,7	
Hypothèse de construction	Avec seuil --> cf. arbre de décision sous tableau	3	
Choix de l'étude (ou des études) clé	Qualité de l'étude	5	Klimisch 1
	Voie exposition	5	
	Durée	5	> 1 an
	Confiance pour le critère "choix de l'étude clé"	5,0	
Choix du PoD	BMD/BMDL, couple NOAEL/LOAEL, NOAEL seul ou LOAEL seul, fonction Exposition-Risque (E-R)	fonction E-R fort ou BMD/BMDL (forte confiance) 5	
Ajustements	Temporel		
	Allométrique	Ajustement avec valeurs des coefficients basées sur les connaissances 3	
Construction		4	Extrapolation aux faibles doses
LIGNES MASQUEES	si C11 = Homme	somme 28,3	
		niveau 4,0	
	si C11 = Animal	somme 31,3	
		niveau 3,9	
Niveaux de confiance	Niveau de confiance global	valeur 3,9	
		Niveau Moyen-fort	

Annexe 10 : Grille ToxRTool d'évaluation de l'étude de Leonard *et al.* (1987)

Reliability assessment of in vivo toxicity studies		
Study under evaluation		
Authors:		
Leonard		
Title:		
Dinitrotoluene Isomer-Specific Hepatocarcinogenesis in F344 Rats		
Testing facility, year, sponsor, study no. or bibliographic reference:		
1987		
Explanations are available for most criteria and show up, when the cursor is moved over the criteria field. Please read carefully! Red criteria: the maximum score is needed for these criteria to achieve reliability category 1 or 2 (see worksheet Explanations): Please evaluate with special care!		
Criteria		
		Evaluator's explanations, comments on criteria, etc.
Criteria Group I: Test substance identification		
No.	Criteria	Score
1	Was the test substance identified?	1
2	Is the purity of the substance given?	0
3	Is information on the source/origin of the substance given?	1
4	Is all information on the nature and/or physico-chemical properties of the test item given, which you deem indispensable for judging the data (see explanation for examples)?	1
		3
Criteria Group II: Test organism characterisation		
5	Is the species given?	1
6	Is the sex of the test organism given?	Male
7	Is information given on the strain of test animals plus, if considered necessary to judge the study, other specifications (see explanation for examples)?	1
8	Is age or body weight of the test organisms at the start of the study given?	1
9	For repeated dose toxicity studies only (give point for other study types): Is information given on the housing or feeding conditions?	1
		4
Criteria Group III: Study design description		
10	Is the administration route given?	1
11	Are doses administered or concentrations in application media given?	1
12	Are frequency and duration of exposure as well as time-points of observations explained?	1
13	Were negative (where required) and positive controls (where required) included (give point also, when absent but not required, see explanations for study types and their respective requirements on controls)?	1
14	Is the number of animals (in case of experimental human studies: number of test persons) per group given?	1
15	Are sufficient details of the administration scheme given to judge the study (see explanation for examples)?	1
16	For inhalation studies and repeated dose toxicity studies only (give point for other study types): Were achieved concentrations analytically verified or was stability of the test substance otherwise ensured or made plausible?	1
		6
Criteria Group IV: Study results documentation		
17	Are the study endpoint(s) and their method(s) of determination clearly described?	1
		Weight, serum chemistry effects, hepatocellular histopathology, hepatic EH
18	Is the description of the study results for all endpoints investigated transparent and complete?	1
19	Are the statistical methods applied for data analysis given and applied in a transparent manner (give also point, if not necessary/applicable, see explanations)?	1
		analysis of variance, Dunnett's test
		3
Criteria Group V: Plausibility of study design and results		
20	Is the study design chosen appropriate for obtaining the substance-specific data aimed at (see explanations for details)?	1
21	Are the quantitative study results reliable (see explanations for arguments)?	0
		Only two tested doses
		1
		WARNING: check for unprocessed criteria! (for each criterium a score has to be selected)
		17
	A Numerical result leads to initial Category:	2
	B Checking red scores leads to revised Category:	2
	C Evaluator's proposal: Category:	2
	D Justification in case evaluator deviates from B:	

Annexe 11 : Grille d'évaluation du niveau de confiance de la VTR orale long terme sans seuil pour le 2,6-DNT à partir de l'étude de Leonard *et al.* (1987)

Substance		2,6-DNT
N° CAS		606-20-2
Type de VTR		
		VTR long terme orale sans seuil
VR	Organisme constructeur	Anses
	Année	2024
	Nom	ERU
	Valeur	0,79 (mg.kg ⁻³ .pc.j ⁻¹) ⁻¹
Effet critique		Carcinomes hépatocellulaires
Etude clé	Référence	Leonard <i>et al.</i> 1987
	Population de l'étude, espèce	Animal
	Exposition (durée, voie)	Orale, 1 an
PoD		BMDL ₁₀ = 0,47 mg/kg pc/j
Ajustement temporel		
Ajustement allométrique		BMDL _{HED} = 0,13 mg/kg pc/j
Construction		Extrapolation linéaire aux faibles doses
Read-across		Choisir



Outil de fixation
des niveaux de confiance
pour les VTR à seuil

		GT	
		Date de l'évaluation : 04/06/2024	
		Niveau de confiance	Argumentation du GT
Corpus de données	Quantité et qualité pour la voie et la durée considérée	1	Etudes genotox (test des comètes positif) + 1 seule de cancéro hépatique
Choix de l'effet critique	Caractère néfaste de l'effet	5	
	Convergence des études	2	Convergence avec les études de cancérogenèse sur le 2,4-DNT
	Transposabilité Animal --> Homme et MoA (mode d'action)	3	Plausible chez l'Homme
	Confiance pour le critère "choix de l'effet critique"	3,3	
Hypothèse de construction	Avec seuil --> cf. arbre de décision sous tableau	4	
Choix de l'étude (ou des études) clé	Qualité de l'étude	3	Seulement 2 doses testées, 1 animal mort sans précisions, uniquement cancers hépatiques
	Voie exposition	5	
	Durée	5	
	Confiance pour le critère "choix de l'étude clé"	4,3	
Choix du PoD	BMD/BMDL, couple NOAEL/LOAEL, NOAEL seul ou LOAEL seul, fonction Exposition-Risque (E-R)	BMD/BMDL	4
Ajustements	Temporel		
	Allométrique	Ajustement avec valeurs des coefficients basées sur les connaissances	3
Construction		3	
LIGNES MASQUEES	si C11 = Homme	somme	23,0
		niveau	3,3
	Si C11 = Animal	somme	26,0
		niveau	3,3
Niveaux de confiance	Niveau de confiance global	valeur	3,3
		Niveau	Moyen



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

14 rue Pierre et Marie Curie 94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr — [@Anses_fr](https://twitter.com/Anses_fr)