

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Élaboration de VTR par voie orale fondée sur des effets reprotoxiques pour le linuron

Avis de l'Anses

Rapport d'expertise collective

Octobre 2017

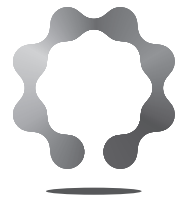
Édition scientifique

Édition révisée de l'avis de 2010 et du rapport de 2009



anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Élaboration de VTR par voie orale fondée sur des effets reprotoxiques pour le linuron

Avis de l'Anses

Rapport d'expertise collective

Octobre 2017

Édition scientifique

Édition révisée de l'avis de 2010 et du rapport de 2009

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 26 octobre 2017

AVIS du 8 avril 2010 révisé¹ **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,** **de l'environnement et du travail**

relatif à l'élaboration de VTR par voie orale fondée sur des effets reprotoxiques pour le linuron (CAS n°330-55-2)

L'avis du 8 avril 2010 de l'Afsset, devenue Anses en juillet 2010, portait lors de sa publication sur la recommandation de VTR pour six substances chimiques : le linuron, le di-n-butylphthalate (DnBP), le benzylbutylphthalate (BBP), le nonylphénol, le toluène et l'éther éthylique de l'éthylène glycol (EGEE). La VTR du toluène ayant fait l'objet d'une actualisation des travaux d'expertise en juin 2017, il était nécessaire de procéder à la révision de l'avis de 2010 susmentionné et d'individualiser l'avis pour chacune de ces substances par l'Anses. Le présent avis révisé relatif au linuron reprend les conclusions et recommandations des travaux d'expertise publiés par l'Afsset en 2010 sans aucune actualisation.

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 Plan national santé environnement (PNSE) 2004-2008, l'Afsset s'est auto-saisie en 2003 pour proposer une méthode de construction de valeurs toxicologiques de référence (VTR) fondées sur des effets reprotoxiques. Le 25 juillet 2007, l'Afsset s'est vu confiée la mission de construction de VTR par ses ministères de tutelles.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

La caractérisation du danger d'une substance a pour objectif, lorsque les données disponibles le permettent, la construction d'une VTR, indice toxicologique permettant d'établir une relation qualitative, voire quantitative, entre une exposition à une substance chimique et un effet sanitaire chez l'homme. Elle établit le lien entre une exposition à une substance toxique et l'occurrence d'un effet sanitaire indésirable.

¹ Annule et remplace l'avis du 8 avril 2010 sans actualisation des travaux d'expertise menés en 2010 – voir annexe 1

Les VTR sont spécifiques d'un type d'effet, d'une substance, d'une durée d'exposition et d'une voie d'exposition. Leur construction diffère en fonction de l'hypothèse formulée ou des données acquises sur les mécanismes d'action toxique de la substance : on parle de VTR « à seuil de dose » pour les substances qui provoquent, au-delà d'une certaine dose, des dommages dont la gravité est proportionnelle à la dose absorbée et de VTR « sans seuil de dose », pour les substances pour lesquelles il existe une probabilité, même infime, qu'une seule molécule pénétrant dans l'organisme provoque des effets néfastes pour cet organisme.

Les VTR à seuil s'expriment comme des doses (ou concentrations) journalières admissibles et correspondent à une estimation théorique de la quantité de substance à laquelle un individu peut théoriquement être exposé sans constat d'effet sanitaire néfaste. Les VTR sans seuil s'expriment comme des excès de risque unitaire et correspondent à la probabilité théorique qu'un individu contracte une pathologie s'il est exposé pendant sa vie entière à une unité de dose de la substance.

Les VTR sont utilisées dans le cadre des évaluations des risques sanitaires. Il s'agit le plus souvent de prévenir l'apparition d'un effet dans une population exposée ou d'estimer un risque en fonction des niveaux d'exposition de la population étudiée.

En accord avec le plan d'action relatif aux éthers de glycol préparé par la Direction générale de la santé (DGS) et annoncé lors du Comité national de sécurité sanitaire du 26 février 2003, et avec l'action 21 du PNSE 2004-2008, l'Afsset s'est auto-saisie pour établir un programme national sur les VTR visant à la constitution d'une expertise française solide et partagée par les différentes instances compétentes. Conformément à la demande originelle du Conseil supérieur d'hygiène public de France (CSHPF), et compte tenu des préoccupations nationales et internationales actuelles, le domaine des substances chimiques toxiques sur la reproduction et le développement embryofœtal présentes dans différents milieux de vie a été proposé en priorité.

Le 25 juillet 2007, le Directeur général de la santé (DGS) et le Directeur général de la prévention des risques (DGPR) ont saisi l'Afsset afin de soumettre au CES concerné les VTR proposées à l'issue de la phase pilote mise en place lors de l'élaboration de la méthode de construction de VTR fondées sur des effets reprotoxiques, à savoir le linuron, le di-n-butylphtalate (DnBP), le benzylbutylphtalate (BBP), le nonylphénol, le toluène et l'éther éthylique de l'éthylène glycol (EGEE).

■ **Élaboration d'une méthode de construction de VTR fondées sur des effets toxiques pour la reproduction et le développement**

Afin de proposer une méthode de référence pour la construction de VTR pour les substances toxiques sur la reproduction et le développement et d'identifier quelles pourraient être les substances prioritaires devant faire l'objet de la construction de telles VTR, l'Afsset a mis en place en 2004 un groupe de travail inter établissements regroupant l'Ineris, l'INRS, l'Afssa, l'InVS, l'ENSP, le Cnam, l'Inserm, le CNRS, les CAP et l'UIC. Cette réflexion, qui s'inscrit dans un contexte européen, vise principalement à développer une analyse critique sur le choix et la construction de VTR pour les substances chimiques reprotoxiques les plus préoccupantes. Parallèlement, le groupe de travail s'est réuni à 12 reprises entre 2004 et 2006, et a rendu deux rapports d'expertise :

- Un rapport intitulé « Identification d'une liste de substances toxiques pour la reproduction et le développement, et proposition d'une méthode de hiérarchisation pour l'analyse des valeurs toxicologiques de référence ». Ce rapport a été présenté au Comité d'experts spécialisés (CES) « évaluation des risques liés aux substances chimiques » le 28 janvier 2005 ;

- Un rapport intitulé « Document de référence pour la construction d'une valeur toxicologique de référence fondée sur des effets reprotoxiques », présenté au CES évaluation des risques liés aux substances chimiques le 29 septembre 2006 ;

Ces 2 rapports ont fait l'objet d'un avis de l'Agence daté du 16 avril 2007 ; l'ensemble de ces documents sont publiés sur le site internet de l'Afsset.

■ **Élaboration de VTR de substances reprotoxiques dans le cadre d'une phase pilote**

Dans le cadre du développement de la méthode de construction de VTR reprotoxiques, une phase pilote a été réalisée pour « tester » la méthodologie proposée par le groupe de travail sur quelques substances modèles. À cette fin, l'Agence a fait appel à différents organismes d'expertise prestataires pour construire, selon le document de référence du groupe de travail, les VTR reprotoxiques des substances suivantes :

- Toluène (INERIS)
- Ether éthylique de l'éthylène glycol ou EGEE (INERIS)
- Linuron (Vincent Nedellec Consultant)
- Benzyl butyl phtalate ou BBP (Vincent Nedellec Consultant)
- Nonylphenol (ESMISAB/UBO, Technopôle Brest-Iroise)
- Di-n-butyl-phtalate ou DnBP (ESMISAB/UBO, Technopôle Brest-Iroise)

La construction et les propositions de VTR pour les six substances étudiées lors de la phase pilote font l'objet des annexes 2 et 3 du « document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques. Afsset. Décembre 2006 » disponible en ligne sur le site de l'Agence. L'élaboration de ces VTR avait pour objet de valider la méthode proposée et les valeurs obtenues n'avaient donc pas fait l'objet d'un avis du CES.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

Le 25 juillet 2007, le Directeur général de la santé (DGS) et le Directeur général de la prévention des risques (DGPR) ont demandé à l'Afsset par courrier de faire valider ces VTR proposées à l'issue de la phase pilote. L'Afsset a subséquemment confié au Comité d'Experts Spécialisés (CES) « Évaluation des risques liés aux substances chimiques » l'instruction de cette saisine lors de sa séance du 20 septembre 2007. Le CES a mandaté un expert rapporteur pour chaque substance, nommés par décision du Directeur général de l'Afsset, avec pour mission de :

- faire une relecture attentive et une analyse critique du rapport du prestataire ;
- réaliser une analyse critique des choix effectués aux différentes étapes de la construction de VTR au regard des éléments disponibles dans la méthode de construction des VTR pour les effets sur la reproduction et le développement ;
- faire une analyse critique des données bibliographiques publiées depuis la parution de ce rapport ;
- participer à la rédaction du rapport d'expertise collective.

Les travaux des experts rapporteurs ont été soumis et discutés par le CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques.

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) » avec pour objectif de respecter les points suivants : compétence, indépendance, transparence, traçabilité.

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

Le présent avis se fonde, pour ce qui concerne les aspects scientifiques, sur les rapports des organismes experts prestataires regroupés dans le document de référence de l'Afsset, décembre 2006, annexe 2 cité ci-dessus, sur les rapports d'expertise qui ont été adoptés par le CES « Évaluation des risques liés aux substances chimiques » entre le 16 juin 2008 et le 17 septembre 2009 et sur la note de synthèse du CES pour le linuron : Validation de VTR fondées sur des effets reprotoxiques : le linuron (CAS 330-55-2). Version finale. Mai 2008 ; Note de synthèse adoptée le 16 juin 2008.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

- Le linuron est un herbicide de la famille des urées substituées. La population générale est exposée principalement par voie orale lors de l'ingestion d'aliments contaminés. Une VTR a ainsi été construite pour la voie orale.
- Il n'existe aucune donnée chez l'homme. Chez l'animal (rat), l'effet sur le développement de l'appareil reproducteur mâle (hypoplasie des testicules et des épидидymes) peut être retenu comme effet critique et est pertinent chez l'homme.
- Le mécanisme avancé (effet anti-androgénique par compétition avec la testostérone) est plausible.
- Depuis 2004, le linuron est classé par l'Union européenne (U.E.) comme substance reprotoxique chez l'Homme de catégorie 2 pour le développement et de catégorie 3 pour la fertilité en application de la Directive 67/548/CE.

L'Afsset propose ainsi la construction d'une VTR spécifique aux effets sur le développement. Compte tenu des effets sur le développement de l'appareil génital également mis en évidence, qui signent une perturbation endocrinienne et dont la fenêtre d'exposition critique correspond à la période de gestation, la VTR est applicable pour une exposition subchronique chez l'homme et la femme.

Effet critique	Dose critique*	UF	VTR
Hypoplasie des testicules et des épидидymes	Absence de NOAEL LOAEL = 12,5 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹	300	VTR = 0,05 mg.kg⁻¹.j⁻¹
Étude de toxicité prénatale orale chez le rat (GD12-GD21)	<u>Calcul d'une BMD</u> BMD ₀₅ = 18 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹	UF _A 10 UF _H 10 UF _L 3	
McIntyre <i>et al.</i> 2000	BMDL₀₅ = 14 mg.kg⁻¹.j⁻¹		

LOAEL = Lowest Observed Adverse Effect Level; NOAEL = No Observed Adverse Effect Level; BMD = Benchmark Dose; UF = *uncertainty factors* (facteurs d'incertitude). UF : facteur d'incertitude global (appliqué), UF_A : variabilité inter-espèces, UF_H : variabilité individuelle, UF_L : utilisation d'un LOAEL plutôt que d'une dose sans effet, GD : Gestation Day, PND : Post Natal Day.

* Facteurs de conversion temporels, coefficients allométriques : NEANT.

Parmi les effets précoces, survenant aux plus faibles doses, l'absence de régression des mamelons observée chez les rats mâles est un effet qui ne peut se produire chez l'homme. Néanmoins, il signe une perturbation de la différenciation sexuelle lors de l'embryogenèse, ce qui pourrait se traduire par un effet différent chez l'homme. En outre, la réduction de la distance anogénitale est considérée comme un marqueur pertinent, facilement identifiable et mesurable chez l'homme et chez l'animal.

Les connaissances sur le caractère perturbateur endocrinien du linuron sont partielles : une seule espèce animale a été testée et l'atteinte de la fertilité n'a pas été étudiée. L'agence recommande donc de réévaluer la VTR en fonction des nouvelles publications scientifiques.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions et recommandations du CES qui portent sur l'élaboration d'une VTR reprotoxique par voie orale pour le linuron.

Dr Roger Genet

MOTS-CLÉS

Linuron, reprotoxicité, développement, fertilité, valeurs toxicologiques de référence, dose critique, facteurs d'incertitude, effets santé, population générale

ANNEXE 1 : SUIVI DES ACTUALISATIONS DU RAPPORT

Date	Version	Description de la modification
Novembre 2009	01	Rapport relatif à l'élaboration de VTR reprotoxiques pour le linuron, le di-n-butylphtalate, le benzylbutylphtalate, les nonylphénols, le toluène et l'éther éthylique de l'éthylène glycol
Juin 2017	02	Séparation du précédent rapport pour avoir un rapport par substance Pas d'actualisation de l'expertise

Valeurs toxicologiques de référence

Elaboration d'une VTR reprotoxique par voie orale pour le linuron (n°CAS 330-55-2)

Mission permanente « Valeurs toxicologiques de référence »
Saisine n°2017-SA-0209
Saisine liée n°2003/AS03-2

RAPPORT **d'expertise collective de novembre 2009 révisé** **en juin 2017¹**

Comité d'experts spécialisé « Evaluation des risques liés aux substances
chimiques »

Novembre 2009

¹ Annule et remplace le rapport de novembre 2009 – voir annexe 2

Mots clés

Linuron, reprotoxicité, développement, fertilité, valeurs toxicologiques de référence, dose critique, facteurs d'incertitude, effets santé, population générale.

Key words

Linuron, reprotoxicity, development, fertility, TRV, Toxicological reference value, critical dose, uncertainty factor, health effects, general population

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 Annie PFOHL-LESZKOWICZ – Professeur d'Université en Toxicologie et Sécurité Alimentaire, Pharmacien-Toxicologue, Institut National Polytechnique Toulouse, LGC/UMR CNRS 5503. Membre du Comité d'Experts Spécialisés « évaluation des risques liés aux substances chimiques ».

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

- Evaluation des risques liés aux substances chimiques – 29 mai 2008

Président

M. Michel GUERBET – Professeur des Universités en toxicologie

Membres

M. Pierre-Marie BADOT – Professeur des Universités en biologie environnementale

Mme Claire BEAUSOLEIL – Pharmacien toxicologue responsable des évaluations européennes des substances chimiques. Démission le 28 septembre 2009.

M. Luc BELZUNCES – Directeur de recherche, responsable du laboratoire de toxicologie environnementale à l'INRA

Mme Christine CEZARD – Pharmacien toxicologue en centre anti-poison

M. Michel DESLAURIERS – Médecin toxicologue, pôle de toxicologie industrielle

M. Pascal EMPEREUR-BISSONNET – Evalueur de risque en santé environnement

Mme Brigitte ENRIQUEZ – Pharmaco-toxicologue

M. Olivier FARDEL – Professeur des Universités en toxicologie

Mme Hélène FENET – Pharmacien, Maître de conférence en sciences de l'environnement et santé publique

M. Luc FERRARI – Pharmacien toxicologue

M. Luc FONTANA – Maître de Conférences des Universités – Praticien hospitalier, Médecine, Santé au travail

Mme Nathalie FOUILHE SAM-LAI – Pharmacien toxicologue en centre anti-poison

Mme Barbara GOUGET – Chercheur en toxicologie des contaminants physico-chimiques. Démission le 1er juillet 2009.

Mme Dominique GUENOT – Chercheur en cancérologie et neurosciences

M. Cong Khanh HUYNH – Dr ès Science, ingénieur chimiste spécialisé en santé au travail

M. Dominique LAFON – Médecin toxicologue, évaluation des risques liés à la femme enceinte en entreprise

Mme Béatrice LALERE – Docteur en chimie analytique et en environnement

Mme Annie LAUDET-HESBERT – Pharmacien toxicologue, retraitée de l'INRS

M. Jean-Pierre LEPOITTEVIN – Professeur des universités en dermatochimie

Mme Anne-Christine MACHEREY – Docteur en toxicologie, spécialisée dans la prévention du risque chimique

Mme Florence MENETRIER – Pharmacien, chef de projet dans le domaine de la toxicologie nucléaire, CEA

Mme Annie PFOHL-LESZKOWICZ – Professeur d'Université en toxicologie et sécurité alimentaire, Pharmacien-Toxicologue

M. Daniel PICART – Retraité de l'enseignement et de la recherche en chimie structurale

M. Alain-Claude ROUDOT – Enseignant chercheur en statistique et analyse de risque

Mme Béatrice SECRETAN – Docteur en toxicologie spécialisée dans l'évaluation de la cancérogénicité des substances

Mme Anne STEENHOUT – Chimiste, spécialiste en évaluation intégrée des risques sanitaires

M. Robert TADRIF – Chimiste et toxicologue, spécialisé en santé environnement et santé au travail

M. Eric THYBAUD – Ecotoxicologue.

PARTICIPATION ANSES

Coordination et contribution scientifique

Mme Nathalie BONVALLOT – Chef de projet scientifique – toxicologue – Afsset

M. Christophe ROUSSELLE – Chef d'unité - toxicologue – Afsset

Secrétariat administratif

Mme Séverine BOIX – Afsset

CONTRIBUTIONS EXTÉRIEURES AU COLLECTIF

« Construction d'une VTR reprotoxique pour le linuron, selon la méthode proposée dans le document de référence. Rapport final. Mai 2006 » M. Vincent NEDELLEC – Evalueur de risque. Vincent Nedellec Consultant. Saulx-les-Chartreux.

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Expertise collective : synthèse de l'argumentaire et conclusions	6
Sigles et abréviations	13
1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine.....	14
1.1 Contexte.....	14
1.2 Objet de la saisine.....	14
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation.....	15
2 Recueil des données toxicologiques.....	16
3 Analyse et évaluation des choix pour la construction de la VTR	18
3.1 Choix de l'effet critique.....	18
3.2 Choix de l'étude	18
3.3 Choix de la dose critique	18
3.4 Choix des facteurs d'incertitude	19
4 Conclusions de l'expertise collective	20
5 Bibliographie.....	21
ANNEXES	22
Annexe 1 : Lettre de saisine.....	23
Annexe 2 : Suivi des actualisations du rapport.....	25

Expertise collective : synthèse de l'argumentaire et conclusions



EXPERTISE COLLECTIVE : SYNTHÈSE ET CONCLUSIONS

Relatives à la construction d'une VTR fondée sur les effets reprotoxiques du
Linuron (N°CAS 330-55-2)

Saisine Afsset n°2003/AS03

Ce document synthétise les travaux du prestataire et du rapporteur et présente les compléments du Comité d'Experts Spécialisés.

Présentation de la question posée

Dans le cadre du programme de travail de l'Afsset sur les VTR reprotoxiques, une phase pilote a été organisée afin de s'assurer de la mise en pratique de la méthode de construction proposée. Des VTR reprotoxiques ont été construites sous forme de prestation pour le linuron, le di-n-butylphtalate (DnBP), le benzylbutylphtalate (BBP), le nonylphénol, le toluène et le 2-éthoxyéthanol (EGEE). La DGS a saisi l'Afsset le 25 juillet 2007 pour que ces VTR soient validées dans le cadre de l'expertise collective de l'Agence.

Organisation de l'expertise

L'Afsset a confié au Comité d'Experts Spécialisés (CES) « Evaluation des risques liés aux substances chimiques » la validation de ces VTR. Ce dernier a mandaté un rapporteur pour l'expertise du linuron qui a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « qualité en expertise ».

Description de la méthode de travail

Sur la base du document « construction/ choix d'une VTR reprotoxique pour le Linuron » réalisé par l'équipe de Vincent Nedellec Consultant¹, le rapporteur a évalué la conformité de la méthode employée par rapport aux préconisations du groupe de travail sur les points suivants : i) recherche d'informations et ii) profil toxicologique en vue de sélectionner l'effet critique et l'étude source à exploiter. Il donne ensuite son avis sur les choix effectués au regard des données disponibles.

La construction des VTR diffère en fonction de l'hypothèse formulée ou des données acquises sur les mécanismes d'action toxique de la substance. 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 des conventions, on considère généralement que la toxicité ne s'exprime qu'au-delà d'un seuil de dose pour les effets

¹ Annexe 2 du document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques

² NOAEL : « no observed adverse effect level » ; LOAEL : « lowest observed adverse effect level » ; BMDL : limite inférieure de l'intervalle de confiance de la benchmark dose.

reprotoxiques (à l'exception des effets mutagènes sur cellules germinales). Ce postulat peut néanmoins être remis en cause si les données disponibles le justifient.

Mathématiquement, la construction d'une VTR est donc définie de la manière suivante :

$$VTR = \frac{\text{Dose critique}}{UF} \quad \text{avec} \quad \begin{array}{l} \text{Dose critique} = \text{NOAEL, LOAEL ou BMDL}^2 \\ UF = \text{facteur d'incertitude global appliqué} \end{array}$$

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

- choix de l'effet critique ;
- choix d'une étude de bonne qualité scientifique permettant généralement d'établir une relation dose – réponse (ou dose – effet) ;
- choix ou construction d'une dose critique à partir des doses expérimentales et/ou des données épidémiologiques ;
- application de facteurs d'incertitude à la dose critique pour tenir compte des incertitudes.

La méthode est détaillée dans le document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques (Afsset. Décembre 2006) et la construction de la VTR du linuron s'appuie sur cette méthode.

Une discussion collégiale au sein du CES a ensuite permis de se prononcer sur le choix de la dose critique et des facteurs d'incertitude. Le CES a insisté sur la nécessité de restituer les études complémentaires qui, si elles ne sont pas directement exploitées pour l'identification de la dose critique, sont utiles au choix des facteurs d'incertitudes (études de toxicocinétique, disponibilité d'autres NOAEL ou LOAEL, etc.).

Résultats de l'expertise collective

Recueil des données toxicologiques

Cette partie est fondée sur le résumé des travaux réalisés en 2006 par le prestataire dans le cadre de la phase pilote. Pour plus d'information, le lecteur pourra se reporter au « document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques, annexe 2 ». Le rapport est basé sur les monographies réalisées antérieurement à ce travail par des instances nationales et sur la littérature parue après ces monographies.

Le linuron est un herbicide de la famille des urées substituées. Il a pour principales caractéristiques chimiques d'être très stable, non volatile, non corrosif, peu soluble dans l'eau et peu toxique pour les mammifères. Son usage est restreint depuis 2002. En Europe, la production annuelle est de 500 à 1000 tonnes par an (principalement en France, Italie, Hollande, Espagne, Angleterre). Compte tenu des usages du linuron en tant qu'herbicide, l'exposition peut se faire lors de l'utilisation de produit en contenant, par voie respiratoire ou cutanée, mais également par voie orale lors de l'ingestion d'aliments contaminés par des traces de linuron. En population générale, l'exposition principale se fait par voie orale.

Le linuron est classé depuis 2004 (29^{ème} ATP) par l'Union Européenne comme substance reprotoxique chez l'homme de catégorie 2 pour le développement (risque pendant la grossesse d'effet néfaste pour l'enfant) et de catégorie 3 pour la reproduction (risque possible d'altération de la fertilité).

Par voie orale et en exposition chronique, les effets hématologiques (pigmentation anormale du sang caractérisée par un pic d'absorption entre 618 et 620 nm lors de la transformation

de l'hémoglobine en cyanhémoglobine et anémie hémolytique) sont considérés comme les effets néfastes les plus sensibles chez le rat et le chien.

Chez l'animal, il est clairement admis aujourd'hui que le linuron exerce des effets toxiques pour le développement de l'appareil génital mâle du fœtus lors d'expositions maternelles. En revanche, aucun effet n'a été mis en évidence chez les femelles, ni chez les mâles lors d'exposition uniquement pendant l'âge adulte. Il n'existe pas de données chez l'Homme.

Les effets sur le développement peuvent donc être, en l'état actuel des connaissances, considérés comme des effets critiques pour une exposition au linuron orale de courte durée (pendant la gestation).

Ces effets sont décrits chez des rats exposés *in utero* ou pendant le début de la vie (rats immatures). Parmi les effets critiques rapportés, les plus fréquents sont une absence de régression des mamelons, une réduction de la distance ano-génitale, une réduction du poids des organes génitaux mâle, une hypoplasie testiculaire et des épидидymes, une malformation des organes sexuels internes (épидидymes, canal déférent, vésicule séminale) et externes (hypospadias, cryptorchidie).

A partir de la revue de la littérature, et en s'appuyant sur les données les plus récentes, trois études réalisées chez l'animal ont été retenues. Elles sont jugées représentatives des effets reprotoxiques observés.

La première étude a été réalisée chez des rats exposés 80 jours à partir du 20^{ème} jour après la naissance. L'effet néfaste est une diminution significative du poids de la vésicule séminale et des épидидymes ainsi qu'une augmentation significative de l'âge à la puberté au LOAEL de 40 mg/kg/j (NOAEL = 20 mg/kg/j). A également été mise en évidence une diminution significative du poids des testicules et des épидидymes des mâles de la génération F1 (Gray, 1999).

La deuxième étude a été réalisée chez le rat exposé *in utero* du 12^{ème} au 21^{ème} jour de gestation. Chez les descendants mâles, l'incidence d'hypoplasie des testicules et des épидидymes augmente dès le premier groupe de dose à 12,5 mg/kg/j (McIntyre, 2000).

La troisième étude (Kang, 2004) a été réalisée chez des rats mâles immatures et castrés exposés par gavage pendant 10 jours. On observe une diminution significative du poids des vésicules séminales, de la prostate ventrale, et des glandes de Cowper dans le deuxième groupe de dose (LOAEL = 50 mg/kg/j ; NOAEL = 25 mg/kg/j).

Les trois expérimentations animales sont conduites selon des protocoles rigoureux : lignes directrices de bonnes pratiques de l'US EPA pour la première, protocole similaire à un protocole standardisé pour la seconde et lignes directrices de l'OCDE pour la troisième. Ces études ont donc été classées 1 sur la base de la classification de Klimisch et peuvent être retenues pour la construction d'une VTR.

Le mécanisme toxique responsable de ces effets serait l'action anti-androgénique (compétition avec la testostérone au niveau des récepteurs androgéniques) responsable d'anomalies dans la différenciation sexuelle au cours de l'embryogenèse. Par ailleurs, l'action anti-androgénique du linuron favoriserait la prolifération d'hormone lutéinique provoquant les tumeurs des cellules de Leydig. Il s'agit donc d'un mécanisme de perturbation endocrinienne.

Au vu de l'ensemble des données disponibles, il apparaît que les effets développementaux observés chez l'animal ne puissent pas être écartés chez l'homme.

Analyse et évaluation des choix pour la construction de la VTR

Choix de l'effet critique

Les effets sur le développement les plus pertinents sont observés au niveau de l'appareil reproducteur mâle, d'un point de vue histologique mais aussi fonctionnel. Les principaux

effets ainsi observés sont : absence de régression des mamelons, réduction ano-génitale, réduction du poids des organes génitaux mâle, hypoplasie testiculaire et des épидидymes, malformation des organes sexuels internes (épидидymes, canal déférent, vésicule séminale) et externes (hypospadias, cryptorchidie).

L'effet critique retenu pour l'établissement d'une VTR reprotoxique est en cohérence avec les rapports publiés. L'effet critique pertinent pour l'homme observé à la plus faible dose est **l'hypoplasie des testicules et des épидидymes**.

Choix de l'étude

Les trois études retenues sont de bonne qualité. Elles sont en outre classées 1 selon la classification de Klimisch. Le choix final entre les trois repose essentiellement sur la possibilité de mettre en évidence une relation dose-réponse (plusieurs groupes de doses testés), la publication dans une revue internationale et le caractère plus précautionneux du LOAEL le plus faible, ce qui est en cohérence avec l'état des connaissances actuelles et des préconisations prévues dans le « document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques. Afsset. Décembre 2006 ». Le LOAEL le plus faible a été mis en évidence pour l'hypoplasie des testicules et épидидymes, observés dans l'étude de McIntyre (2000).

Ainsi, c'est l'étude de **McIntyre et al. (2000)** qui a été retenue. Cette étude est classée 1 selon Klimisch (respect de lignes directrices autres que l'OCDE) : Des rates en gestation ont été exposées par gavage du 12^{ème} au 21^{ème} jour à 0 - 12,5 - 25 et 50 mg/kg/j de linuron. Chez les descendants mâles (F1), l'incidence d'hypoplasie des testicules et des épидидymes augmente dès la première dose testée : 0 % dans le groupe témoin et respectivement 3,6 % et 1,8° dans le premier groupe exposé à 12,5 mg/kg/j. Ces taux d'incidence passent respectivement à 11,3 % et 9 % dans le dernier groupe exposé à 50 mg/kg/j. On observe une absence dose dépendante de régression des mamelons mais la différence n'est significative qu'à la plus forte dose (variable continue : pas d'incidence). Est également observée une augmentation significative, uniquement à la plus forte dose, des malformations des épидидymes (6,8 %) et une absence de canal déférent (4,5 %). L'effet retenu est une **hypoplasie des testicules et des épидидymes (p=0,05) chez les nouveau-nés mâles**. Cet effet signe un mécanisme de perturbation endocrinienne.

Choix de la dose critique

Dans l'étude retenue, l'hypoplasie des testicules et des épидидymes est observée dès la plus faible dose testée, correspondant donc à un **LOAEL de 12,5 mg/kg/j**. Aucun NOAEL ne peut donc être proposé dans cette étude. On peut simplement préciser que le NOAEL se situe entre 0 et 12,5 mg/kg/j.

Pour déterminer ce LOAEL, les auteurs ont utilisé les méthodes d'analyse de la variance (ANOVA) et d'analyse de la covariance (ANCOVA) suivi d'un test de Dunnett pour tester les effets liés au traitement des animaux par le linuron. Le seuil de 0,05 a été retenu pour la significativité des résultats.

Pendant la phase pilote, l'Afsset a proposé de construire une BMDL sur la base de l'effet retenu. La réponse obtenue est de type dichotomique (effet/absence d'effet). Plusieurs modèles ont été testés (logit, probit, gamma et weibull) et le modèle probit a été retenu car s'ajustant le mieux aux données. Un niveau de réponse (BMR) de 5 % en « extra risk » a été retenu (l'extra risk correspond à l'augmentation du risque comparativement à la probabilité de ne pas être affecté dans le groupe témoin, réponse vraisemblablement plus conservatrice). On obtient une **BMD₀₅ à 18 mg/kg/j** et une **BMDL₀₅ à 14 mg/kg/j** (les résultats de l'ensemble de la démarche sont détaillés dans le « document de référence pour

la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques », annexe 3). On note une variabilité faible dans les résultats de la BMDL.

Choix des facteurs d'incertitude

- UF_A : variabilité inter-espèces : le facteur retenu est le facteur maximal de 10 car il n'y a pas suffisamment d'élément chez l'homme.
- UF_H : variabilité intra-espèce : le facteur 10 est conservé par défaut lors de l'utilisation d'études réalisées chez l'animal, pour tenir compte de la plus grande variabilité de l'espèce humaine.
- $UF_{L/B}$: utilisation d'une BMDL : les préconisations de l'Afsset sont un facteur 3 ou 10 en fonction des cas. Le CES propose un facteur de 3 car l'incidence retenue de 5 % est faible et on note un NOAEL à 20 mg/kg/j dans une autre étude de la littérature, ce qui pencherait en faveur d'un NOAEL proche du LOAEL.

Le Comité d'Experts Spécialisés « Evaluation des risques liés aux substances chimiques » adopte les résultats de l'expertise collective lors de sa séance du 29 mai 2008 et fait part de cette adoption à la direction générale de l'Afsset.

Conclusions de l'expertise collective

- ▶ Le linuron est une substance qui a fait l'objet de plusieurs études (relations dose-réponse et mécanisme d'action) et rapports d'évaluation des risques.
- ▶ Les effets observés chez l'animal (rat) sont pertinents pour l'homme et l'effet sur le développement de l'appareil reproducteur mâle (hypoplasie des testicules et des épидидymes) peut être retenu comme effet critique.
- ▶ Le mécanisme avancé (effet anti-androgénique par compétition avec la testostérone) est plausible.
- ▶ Il n'existe aucune étude chez l'homme.

Le CES propose ainsi la construction d'une VTR spécifique aux effets sur le développement. Compte tenu des effets sur le développement de l'appareil génital mis en évidence, qui signent une perturbation endocrinienne et dont la fenêtre d'exposition critique correspond à la période de gestation, la VTR sera applicable pour une exposition subchronique.

-- Linuron CAS 330-55-2--

Effet critique	Dose critique*	UF	VTR
Hypoplasie des testicules et des épидидymes	LOAEL = 12,5 mg/kg/j Absence de NOAEL	300	VTR = 0,05 mg/kg/j
Etude de toxicité prénatale orale chez le rat (GD12-GD21) McIntyre <i>et al.</i> 2000	BMD ₀₅ = 18 mg/kg/j BMDL₀₅ = 14 mg/kg/j	UF _A 10 UF _H 10 UF _{L/B} 3	Niveau de confiance Recueil de données : moyen (absence d'étude sur la fertilité) Etude : fort Dose critique : fort VTR : moyen

*Facteurs de conversion temporels, coefficients allométriques : NEANT

Recommandations du CES

Parmi les effets précoces, survenant aux plus faibles doses, l'absence de régression des mamelons observée chez les rats mâles est un effet qui ne peut se produire chez l'homme. Néanmoins, il signe une perturbation de la différenciation sexuelle lors de l'embryogenèse, ce qui pourrait se traduire par un effet différent chez l'homme. En outre, la réduction de la distance ano-génitale est considérée comme un marqueur pertinent, facilement identifiable et mesurable chez l'homme et chez l'animal.

Les connaissances sur le caractère perturbateur endocrinien du linuron restent encore actuellement partielles : une seule espèce animale a été testée et l'atteinte de la fertilité n'a pas été étudiée. Le CES recommande donc de ré-évaluer la VTR au vu de nouvelles informations qui seraient publiées sur ce thème.

Enfin, le CES n'a pas souhaité appliquer d'ajustement allométrique² à la dose critique car ce type d'ajustements n'a pas encore fait l'objet d'une étude approfondie en France, et le document de référence pour la construction de VTR fondées sur des effets reprotoxiques n'a pas encore abordé cette question. La nécessité d'approfondir la compréhension des transpositions animal – homme et du facteur d'incertitude UF_A incite à recommander qu'une réflexion plus poussée soit faite en ce sens.

Maisons-Alfort, le 16 juin 2008.

Au nom des experts du CES
« Evaluation des risques liés aux substances chimiques »,

le président du CES



² Certains organismes proposent parfois des doses ou concentrations critiques « human equivalent » par l'application d'ajustements tenant compte des différences de surfaces corporelles lors d'une exposition orale ou d'autres paramètres physiologiques spécifiques à la voie respiratoire. Ces ajustements n'ont pas encore fait l'objet de discussions approfondies au sein des groupes de travail français.

Sigles et abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
Afsset	Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail
BMD	Benchmark Dose
BMDL	Limite inférieure de l'intervalle de confiance de la Benchmark Dose
BMR	Benchmark response
GD	Jour de gestation (« Gestation Day »)
LD	Jour de lactation (« Lactation Day »)
LOAEC	Concentration minimale entraînant un effet néfaste observe (« Lowest Observed Adverse Effect Concentration »)
LOAEL	Dose minimale entraînant un effet néfaste observe (« Lowest Observed Adverse Effect Level »)
NOAEC	Concentration maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé (« No Observed Adverse Effect Concentration »)
NOAEL	Dose maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé (« No Observed Adverse Effect Level »)
OCDE	Organisation de coopération et de développement économiques
OEHHA	Office on Environmental Health Hazard Assessment
PND	Jour post-natal (« Post natal Day »)
RfC	Reference Concentration
REL	Reference Exposure Level
VTR	Valeur Toxicologique de Référence
UE	Union Européenne
UF	Facteur d'incertitude (« Uncertainty Factor »)
US EPA	United State Environmental Protection Agency (Etats-Unis)

1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine

1.1 Contexte

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 une substance toxique et l'occurrence d'un effet sanitaire indésirable. Les VTR sont spécifiques d'une durée d'exposition (aiguë, subchronique ou chronique) et d'une voie d'exposition (orale ou respiratoire). La construction des VTR diffère en fonction des connaissances ou des hypothèses formulées sur les mécanismes d'action biologiques des substances. Ainsi, si une substance est connue comme ayant une action directe sur le matériel génétique humain (l'ADN), alors on considère que les effets indésirables que peut engendrer une exposition à cette substance (qui sont généralement des cancers, sauf si le matériel génétique atteint est celui des cellules germinales) peuvent se produire même pour la plus petite dose reçue. On parle dans ce cas de « VTR sans seuil d'effet ». En revanche, si une substance n'a pas d'action directe sur le matériel génétique humain, alors on considère en général que l'effet indésirable survient au-delà d'une certaine dose reçue et que c'est la gravité de l'effet qui croît avec la dose plutôt que la probabilité de survenue. On parle alors de « VTR à seuil d'effet ».

Les VTR sont par ailleurs largement impliquées dans la démarche d'évaluation des risques sanitaires, processus décisionnel visant à fournir des éléments scientifiques utiles à la gestion des risques. L'élaboration des VTR suit une approche très structurée et codifiée qui implique des évaluations collectives par des groupes de spécialistes. Leur élaboration et leur utilisation s'inscrivent donc dans une procédure exigeante, aux conséquences majeures en termes de santé publique.

L'Afsset s'est auto-saisie en 2003 afin d'établir un programme national sur les VTR visant à la constitution d'une expertise française solide et partagée par les différentes instances compétentes. Le domaine des substances chimiques reprotoxiques a été proposé comme priorité d'action. Pour répondre à cet objectif, l'Afsset a constitué un groupe de travail en 2004 afin d'élaborer une méthode de construction pour les VTR fondées sur des effets reprotoxiques. Dans le cadre de ces travaux, un appel à contributions restreint a été proposé par l'Afsset pour la construction de VTR reprotoxiques pour 6 substances (le linuron, le di-n-butylphtalate ou DnBP, le benzylbutylphtalate ou BBP, le nonylphénol, le toluène et le 2-éthoxyéthanol ou EGEE, la finalité étant de :

- s'assurer que la méthode proposée est, en l'état, suffisante pour permettre de construire une VTR reprotoxique ;
- permettre, par un retour d'expérience pratique, d'améliorer la méthode proposée.

Ces 6 substances ont été choisies parmi une liste hiérarchisée de 450 substances potentiellement reprotoxiques pour lesquelles des données toxicologiques sont disponibles. La construction et les propositions de VTR pour les 6 substances étudiées lors de la phase pilote font l'objet des annexes 2 et 3 du « document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques. Afsset. Décembre 2006 » disponible en ligne sur <http://www.afsset.fr/>.

1.2 Objet de la saisine

Le 25 juillet 2007, le Directeur général de la santé (DGS) et le Directeur général de la prévention des risques (DGPR) saisissaient l'Afsset afin de faire valider par le CES concerné les VTR

proposées lors de la phase pilote mise en place lors de l'élaboration de la méthode de construction de VTR fondées sur des effets reprotoxiques, à savoir le linuron, le DnBP, le BBP, le nonylphénol, le toluène et l'EGEE.

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Afsset a confié au Comité d'Experts Spécialisés (CES) « Evaluation des risques liés aux substances chimiques » l'instruction de cette saisine. Ce dernier a mandaté des rapporteurs pour la réalisation des travaux d'expertise pour le linuron, le di-n-butylphtalate, le benzylbutylphtalate, les nonylphénols et le toluène, et le groupe de travail « Valeur Toxicologique de Référence » pour l'éther éthylique de l'éthylène glycol.

Les travaux des experts rapporteurs et du groupe de travail ont été soumis et discutés par le CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques aux séances des 29 mai 2008, 10 juillet 2008, 25 septembre 2008, 23 octobre 2008, 27 novembre 2008, 22 janvier 2009, 25 juin 2009 et 17 septembre 2009. Le rapport produit par le groupe de travail et des rapporteurs tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES.

Les conclusions présentées dans ce document sont ainsi issues 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 » avec pour objectif de respecter les points suivants : compétence, indépendance, transparence, traçabilité.

2 Recueil des données toxicologiques

Cette partie est fondée sur le résumé des travaux réalisés en 2006 par le prestataire dans le cadre de la phase pilote. Pour plus d'information, le lecteur pourra se reporter au « document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques, annexe 2 ». Le rapport est basé sur les monographies réalisées antérieurement à ce travail par des instances nationales et sur la littérature parue après ces monographies.

Le linuron est un herbicide de la famille des urées substituées. Il a pour principales caractéristiques chimiques d'être très stable, non volatile, non corrosif, peu soluble dans l'eau et peu toxique pour les mammifères. Son usage est restreint depuis 2002. En Europe, la production annuelle est de 500 à 1000 tonnes par an (principalement en France, Italie, Hollande, Espagne, Angleterre). Compte tenu des usages du linuron en tant qu'herbicide, l'exposition peut se faire lors de l'utilisation de produit en contenant, par voie respiratoire ou cutanée, mais également par voie orale lors de l'ingestion d'aliments contaminés par des traces de linuron. En population générale, l'exposition principale se fait par voie orale.

Le linuron est classé depuis 2004 (29^{ème} ATP) par l'Union Européenne comme substance reprotoxique chez l'homme de catégorie 2 pour le développement (risque pendant la grossesse d'effet néfaste pour l'enfant) et de catégorie 3 pour la reproduction (risque possible d'altération de la fertilité).

Par voie orale et en exposition chronique, les effets hématologiques (pigmentation anormale du sang caractérisée par un pic d'absorption entre 618 et 620 nm lors de la transformation de l'hémoglobine en cyanhémoglobine et anémie hémolytique) sont considérés comme les effets néfastes les plus sensibles chez le rat et le chien.

Chez l'animal, il est clairement admis aujourd'hui que le linuron exerce des effets toxiques pour le développement de l'appareil génital mâle du fœtus lors d'expositions maternelles. En revanche, aucun effet n'a été mis en évidence chez les femelles, ni chez les mâles lors d'exposition uniquement pendant l'âge adulte. Il n'existe pas de données chez l'Homme.

Les effets sur le développement peuvent donc être, en l'état actuel des connaissances, considérés comme des effets critiques pour une exposition au linuron orale de courte durée (pendant la gestation).

Ces effets sont décrits chez des rats exposés *in utero* ou pendant le début de la vie (rats immatures). Parmi les effets critiques rapportés, les plus fréquents sont une absence de régression des mamelons, une réduction de la distance ano-génitale, une réduction du poids des organes génitaux mâle, une hypoplasie testiculaire et des épидидymes, une malformation des organes sexuels internes (épидидymes, canal déférent, vésicule séminale) et externes (hypospadias, cryptorchidie).

A partir de la revue de la littérature, et en s'appuyant sur les données les plus récentes, trois études réalisées chez l'animal ont été retenues. Elles sont jugées représentatives des effets reprotoxiques observés.

La première étude a été réalisée chez des rats exposés 80 jours à partir du 20^{ème} jour après la naissance. L'effet néfaste est une diminution significative du poids de la vésicule séminale et des épидидymes ainsi qu'une augmentation significative de l'âge à la puberté au LOAEL de 40 mg.kg⁻¹.j⁻¹ (NOAEL = 20 mg.kg⁻¹.j⁻¹). A également été mise en évidence une diminution significative du poids des testicules et des épидидymes des mâles de la génération F1 [Gray, 1999].

La deuxième étude a été réalisée chez le rat exposé *in utero* du 12^{ème} au 21^{ème} jour de gestation. Chez les descendants mâles, l'incidence d'hypoplasie des testicules et des épидидymes augmente dès le premier groupe de dose à 12,5 mg.kg⁻¹.j⁻¹ [McIntyre, 2000].

La troisième étude [Kang, 2004] a été réalisée chez des rats mâles immatures et castrés exposés par gavage pendant 10 jours. On observe une diminution significative du poids des vésicules séminales, de la prostate ventrale, et des glandes de Cowper dans le deuxième groupe de dose (LOAEL = 50 mg.kg⁻¹.j⁻¹ ; NOAEL = 25 mg.kg⁻¹.j⁻¹).

Les trois expérimentations animales sont conduites selon des protocoles rigoureux : lignes directrices de bonnes pratiques de l'US EPA pour la première, protocole similaire à un protocole standardisé pour la seconde et lignes directrices de l'OCDE pour la troisième. Ces études ont donc été classées 1 sur la base de la classification de Klimisch et peuvent être retenues pour la construction d'une VTR.

Le mécanisme toxique responsable de ces effets serait l'action anti-androgénique (compétition avec la testostérone au niveau des récepteurs androgéniques) responsable d'anomalies dans la différenciation sexuelle au cours de l'embryogenèse. Par ailleurs, l'action anti-androgénique du linuron favoriserait la prolifération d'hormone lutéinique provoquant les tumeurs des cellules de Leydig. Il s'agit donc d'un mécanisme de perturbation endocrinienne.

Au vu de l'ensemble des données disponibles, il apparaît que les effets développementaux observés chez l'animal ne puissent pas être écartés chez l'homme.

3 Analyse et évaluation des choix pour la construction de la VTR

3.1 Choix de l'effet critique

Les effets sur le développement les plus pertinents sont observés au niveau de l'appareil reproducteur mâle, d'un point de vue histologique mais aussi fonctionnel. Les principaux effets ainsi observés sont : absence de régression des mamelons, réduction ano-génitale, réduction du poids des organes génitaux mâle, hypoplasie testiculaire et des épидидymes, malformation des organes sexuels internes (épидидymes, canal déférent, vésicule séminale) et externes (hypospadias, cryptorchidie).

L'effet critique retenu pour l'établissement d'une VTR reprotoxique est en cohérence avec les rapports publiés. L'effet critique pertinent pour l'homme observé à la plus faible dose est **l'hypoplasie des testicules et des épидидymes**.

3.2 Choix de l'étude

Les trois études retenues sont de bonne qualité. Elles sont en outre classées 1 selon la classification de Klimisch. Le choix final entre les trois repose essentiellement sur la possibilité de mettre en évidence une relation dose-réponse (plusieurs groupes de doses testés), la publication dans une revue internationale et le caractère plus précautionneux du LOAEL le plus faible, ce qui est en cohérence avec l'état des connaissances actuelles et des préconisations prévues dans le « document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques. Afsset. Décembre 2006 ». Le LOAEL le plus faible a été mis en évidence pour l'hypoplasie des testicules et épидидymes, observés dans l'étude de McIntyre (2000).

Ainsi, c'est l'étude de **McIntyre et al. (2000)** qui a été retenue. Cette étude est classée 1 selon Klimisch (respect de lignes directrices autres que l'OCDE) : Des rates en gestation ont été exposées par gavage du 12^{ème} au 21^{ème} jour à 0 - 12,5 - 25 et 50 mg.kg⁻¹.j⁻¹ de linuron. Chez les descendants mâles (F1), l'incidence d'hypoplasie des testicules et des épидидymes augmente dès la première dose testée : 0 % dans le groupe témoin et respectivement 3,6 % et 1,8°% dans le premier groupe exposé à 12,5 mg.kg⁻¹.j⁻¹. Ces taux d'incidence passent respectivement à 11,3 % et 9 % dans le dernier groupe exposé à 50 mg.kg⁻¹.j⁻¹. On observe une absence dose dépendante de régression des mamelons mais la différence n'est significative qu'à la plus forte dose (variable continue : pas d'incidence). Est également observée une augmentation significative, uniquement à la plus forte dose, des malformations des épидидymes (6,8 %) et une absence de canal déférent (4,5 %). L'effet retenu est une **hypoplasie des testicules et des épидидymes (p=0,05) chez les nouveau-nés mâles**. Cet effet signe un mécanisme de perturbation endocrinienne.

3.3 Choix de la dose critique

Dans l'étude retenue, l'hypoplasie des testicules et des épидидymes est observée dès la plus faible dose testée, correspondant donc à un **LOAEL de 12,5 mg.kg⁻¹.j⁻¹**. Aucun NOAEL ne peut donc être proposé dans cette étude. On peut simplement préciser que le NOAEL se situe entre 0 et 12,5 mg.kg⁻¹.j⁻¹.

Pour déterminer ce LOAEL, les auteurs ont utilisé les méthodes d'analyse de la variance (ANOVA) et d'analyse de la covariance (ANCOVA) suivi d'un test de Dunnett pour tester les effets liés au

traitement des animaux par le linuron. Le seuil de 0,05 a été retenu pour la significativité des résultats.

Pendant la phase pilote, l'Afsset a proposé de construire une BMDL sur la base de l'effet retenu. La réponse obtenue est de type dichotomique (effet/absence d'effet). Plusieurs modèles ont été testés (logit, probit, gamma et weibull) et le modèle probit a été retenu car s'ajustant le mieux aux données. Un niveau de réponse (BMR) de 5 % en « extra risk » a été retenu (l'extra risk correspond à l'augmentation du risque comparativement à la probabilité de ne pas être affecté dans le groupe témoin, réponse vraisemblablement plus conservatrice). On obtient une **BMD₀₅ à 18 mg.kg⁻¹.j⁻¹** et une **BMDL₀₅ à 14 mg.kg⁻¹.j⁻¹** (les résultats de l'ensemble de la démarche sont détaillés dans le « document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques », annexe 3). On note une variabilité faible dans les résultats de la BMDL.

3.4 Choix des facteurs d'incertitude

- UF_A : variabilité inter-espèces : le facteur retenu est le facteur maximal de 10 car il n'y a pas suffisamment d'élément chez l'homme.
- UF_H : variabilité intra-espèce : le facteur 10 est conservé par défaut lors de l'utilisation d'études réalisées chez l'animal, pour tenir compte de la plus grande variabilité de l'espèce humaine.
- UF_{L/B} : utilisation d'une BMDL : les préconisations de l'Afsset sont un facteur 3 ou 10 en fonction des cas. Le CES propose un facteur de 3 car l'incidence retenue de 5 % est faible et on note un NOAEL à 20 mg.kg⁻¹.j⁻¹ dans une autre étude de la littérature, ce qui pencherait en faveur d'un NOAEL proche du LOAEL.

4 Conclusions de l'expertise collective

- ▶ Le linuron est une substance qui a fait l'objet de plusieurs études (relations dose-réponse et mécanisme d'action) et rapports d'évaluation des risques.
- ▶ Les effets observés chez l'animal (rat) sont pertinents pour l'homme et l'effet sur le développement de l'appareil reproducteur mâle (hypoplasie des testicules et des épидидymes) peut être retenu comme effet critique.
- ▶ Le mécanisme avancé (effet anti-androgénique par compétition avec la testostérone) est plausible.
- ▶ Il n'existe aucune étude chez l'homme.

Le CES propose ainsi la construction d'une VTR spécifique aux effets sur le développement. Compte tenu des effets sur le développement de l'appareil génital mis en évidence, qui signent une perturbation endocrinienne et dont la fenêtre d'exposition critique correspond à la période de gestation, la VTR sera applicable pour une exposition subchronique.

-- Linuron CAS 330-55-2--			
Effet critique	Dose critique*	UF	VTR
Hypoplasie des testicules et des épидидymes	Absence de NOAEL LOAEL = 12,5 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹	300	VTR = 0,05 mg.kg⁻¹.j⁻¹
Etude de toxicité prénatale orale chez le rat (GD12-GD21)	<u>Calcul d'une BMD</u> BMD ₀₅ = 18 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹ BMDL₀₅ = 14 mg.kg⁻¹.j⁻¹	UF _A 10 UF _H 10 UF _L 3	Niveau de confiance Recueil de données : moyen (absence d'étude sur la fertilité) Etude : fort Dose critique : fort VTR : moyen
McIntyre <i>et al.</i> 2000			

LOAEL = Lowest Observed Adverse Effect Level; NOAEL = No Observed Adverse Effect Level; BMD = Benchmark Dose; UF = *uncertainty factors* (facteurs d'incertitude). UF : facteur d'incertitude global (appliqué), UF_A : variabilité inter-espèces, UF_H : variabilité individuelle, UF_L : utilisation d'une benchmark dose plutôt que d'une dose sans effet, GD : Gestation Day

* Facteurs de conversion temporels, coefficients allométriques : NEANT

5 Bibliographie

- Afsset. Valeurs toxicologiques de référence (VTR) pour les substances reprotoxiques-méthode de construction de VTR fondées sur des effets toxiques pour la reproduction et le développement. Avril 2007.
- Gray LE, Jr., Wolf C, Lambright C, Mann P, Price M, Cooper RL, et al. Administration of potentially antiandrogenic pesticides (procymidone, linuron, iprodione, chlozolinate, p,p'-DDE, and ketoconazole) and toxic substances (dibutyl- and diethylhexyl phthalate, PCB 169, and ethane dimethane sulphonate) during sexual differentiation produces diverse profiles of reproductive malformations in the male rat. *Toxicol Ind Health* 1999;15(1-2):94-118.
- Kang IH, Kim HS, Shin JH, Kim TS, Moon HJ, Kim IY, et al. Comparison of anti-androgenic activity of flutamide, vinclozolin, procymidone, linuron, and p, p'-DDE in rodent 10-day Hershberger assay. *Toxicology*. 2004;199(2-3):145-59.
- McIntyre BS, Barlow NJ, Wallace DG, Maness SC, Gaido KW, Foster PM. Effects of in utero exposure to linuron on androgen-dependent reproductive development in the male CrI:CD(SD)BR rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2000 Sep 1;167(2):87-99.

ANNEXES

Annexe 1 : Lettre de saisine

MINISTÈRE DE LA SANTÉ, DE LA JEUNESSE ET
DES SPORTSMINISTÈRE DE L'ÉCOLOGIE, DU
DÉVELOPPEMENT ET DE L'AMÉNAGEMENT
DURABLES

Direction générale de la santé

Direction de la prévention des pollutions et des
risques

COURRIER REÇU LE

30 JUIL. 2007

2672

Paris le

25 JUIL. 2007

Le Directeur général de la santé

Le Directeur de la prévention des pollutions
et des risques

à

Madame la Directrice générale de l'Agence
Française de Sécurité Sanitaire de
l'Environnement et du Travail
253 Avenue du Général Leclerc
94701 Maisons-Alfort**Objet :** Valeurs toxicologiques de référence**Copie :** DGT

Par courrier en date du 16 avril 2007, vous nous avez proposé une méthode de construction d'une valeur toxicologique de référence pour les substances toxiques pour la reproduction et le développement et vous nous avez transmis un rapport intitulé « Identification d'une liste de substances toxiques pour la reproduction et le développement et proposition d'une méthode de hiérarchisation pour l'analyse des valeurs toxicologiques de référence ».

Suite à la réunion du 15 juin 2007 entre nos services, nous souhaitons vous confirmer les orientations suivantes.

Il nous paraît en premier lieu pertinent que votre agence poursuive ses travaux méthodologiques. Il nous semble notamment important que l'agence puisse diffuser et valoriser le rapport intitulé « Document de référence pour la construction d'une valeur toxicologique de référence fondée sur des effets reprotoxiques ». A ces fins, nous vous encourageons à assurer, ou faire assurer, la traduction en anglais de ce document pour un meilleur partage des méthodologies scientifiques au niveau européen et une visibilité accrue de l'agence sur la scène européenne et internationale. Par ailleurs, nous souhaitons que l'agence poursuive ses travaux méthodologiques sur les VTR pour les substances cancérigènes et puisse élargir le champ de la méthode de construction élaborée pour les VTR fondées sur des effets reprotoxiques aux effets à seuil.

En ce qui concerne les substances pour lesquelles des VTR nationales devraient être construites, en premier lieu, et pour l'année 2007, nous vous invitons à faire valider par le comité d'experts spécialisés concerné les VTR utilisées lors de la phase pilote de l'élaboration de la méthodologie : toluène, ether éthylique de l'éthylène glycol, linuron, benzyl butyl phtalate, nonylphénol et di-n-

butyl-phtalate. Ainsi, ces six VTR pourront être utilisées en France dans les évaluations des risques sanitaires.

De manière plus globale, nous souhaitons définir à l'avenir un programme national restreint et prioritaire de VTR à élaborer. Ce programme de travail pourra être arrêté sur la base de la liste établie par votre agence ainsi qu'en fonction des priorités de gestion, notamment signalées par nos services déconcentrés en charge de l'instruction des dossiers d'évaluations des risques sanitaires. De plus, il nous semble intéressant de mener les travaux d'élaboration de VTR en synergie avec les autres travaux menés par l'agence sur les substances chimiques. Aussi, nous serions intéressés par la transmission de la liste totale des substances concernées par vos travaux relatifs aux CMR, VLEP, valeurs guides...

En fonction de ces différentes données, une liste prioritaire de substances VTR à élaborer par votre agence pour 2008 vous sera communiquée.

Par ailleurs, nous souhaiterions que votre agence puisse développer et tenir à jour une base de données des VTR nationales, issues du programme évoqué ci-dessus, ou issues de dossiers locaux, où des VTR auront été construites selon les lignes méthodologiques de votre agence et validées par vos soins.

Enfin, en réponse à votre courrier du 27 avril 2007 relatif à l'analyse de la méthode d'élaboration des VTR cancérogènes utilisée par l'INERIS, nous estimons que la construction par l'INERIS des VTR suivant les lignes méthodologiques en cours de définition au sein de votre agence peut être considérée comme phase pilote de l'élaboration de cette méthodologie nationale.

En conséquence, une fois votre méthodologie finalisée et validée, nous vous invitons à faire valider définitivement ces VTR (1,2-dichloroéthane, tétrachlorure de carbone, chloroforme et chlorure de méthylène) par le CES compétent.

Le Directeur général de la santé

LE CHEF DE SERVICE
ADJOINT DU DIRECTEUR GÉNÉRAL
DE LA SANTÉ PAR INTÉRIM

Didier HOUSSIN

Didier EYSSARTIER

**Le Directeur de la prévention des pollutions et
des risques**

Laurent MICHEL

Annexe 2 : Suivi des actualisations du rapport

Date	Version	Description de la modification
Novembre 2009	01	Rapport relatif à l'élaboration de VTR reprotoxiques pour le linuron, le di-n-butylphtalate, le benzylbutylphtalate, les nonylphénols, le toluène et l'éther éthylique de l'éthylène glycol
Juin 2017	02	Séparation du précédent rapport pour avoir un rapport par substance Pas d'actualisation de l'expertise

Notes



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)