

**Groupe d'Experts Toxicologues du Ministère en
charge de l'environnement**

Seuils de Toxicité aiguë

Chloroforme

N° CAS 67-66-3

CHCl₃

Seuils de Toxicité aiguë

Chloroforme (N° CAS : 67-66-3)

PREAMBULE

Le présent rapport a été établi à partir du rapport INERIS référencé *DRC-18-163623-00691A* « Seuils de Toxicité aiguë du chloroforme (N° CAS : 67-66-3) » et amendé suite à son examen par le groupe d'experts toxicologues du Ministère en charge de l'environnement.

Le tableau suivant présente les différentes étapes de validation de ce rapport au sein du groupe d'experts toxicologues :

Date de la revue bibliographique	Novembre 2017
Soumission de la version projet aux experts par voie électronique	Mai 2020
Examen(s) par les experts	Décembre 2017, Novembre 2020, Mars 2021, Avril 2022
Soumission de la version finale aux experts par voie électronique	Avril 2022
Rapport amendé et finalisé	Août 2022

TABLE DES MATIÈRES

1. RESUME.....	5
2. INTRODUCTION	8
3. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ET USAGES.....	9
4. VALEURS OFFICIELLES EXISTANTES	11
5. DONNEES DE TOXICITE CHEZ L'HOMME	14
5.1 Données épidémiocliniques	14
5.2 Données expérimentales chez les Volontaires Sains.....	15
6. DONNEES DE TOXICITE CHEZ L'ANIMAL	16
6.1 Etude des effets létaux.....	16
6.2 Etude des effets non létaux.....	23
7. ANALYSE DES DONNEES DE TOXICITE	29
7.1 Analyse des données de mortalité	29
7.2 Analyse des effets non létaux	33
8. REVUE DES RESULTATS.....	35
8.1 Extrapolation des données expérimentales de l'animal à l'homme	35
8.2 Seuils d'effets létaux chez l'homme.....	36
8.3 Seuils des effets irréversibles.....	37
8.4 Seuils des effets réversibles.....	38
8.5 Seuil de perception.....	38
9. CONCLUSION.....	39
10. REFERENCES	41
11. LISTE DES ANNEXES	43

1. RESUME

Dans le cadre de la prévention des risques liés à des émissions accidentelles dans l'atmosphère de substances chimiques dangereuses, les gestionnaires de risques souhaitent disposer de seuils de toxicité aiguë qui seront le plus souvent utilisés associés à des scénarios d'accidents pour des études de dangers et pour l'élaboration de plans d'urgence.

Les définitions de ces seuils de toxicité ont été actées le 20 août 2003, entre les représentants de l'Administration, de l'INERIS et de l'Industrie Chimique et sont reprises dans la méthodologie révisée de décembre 2007.

Dans ce contexte, le ministère en charge de L'Environnement a demandé souhaite disposer des **seuils des effets létaux significatifs** (SELS), des "**seuils des premiers effets létaux**" (SPEL), des "**seuils des effets irréversibles**" (SEI), des "**seuils des effets réversibles**" (SER) et un "**seuil de perception**" (SP) pour le chloroforme.

L'objet du présent rapport est la présentation de seuils de toxicité aiguë validés par le groupe d'experts toxicologues sur la base d'une proposition de l'INERIS.

◆ **Seuils d'effets létaux significatifs**

TEMPS (min)	SELS	
	mg.m ⁻³	ppm
1*	30 724	6 296
10	14 259	2 922
20	11 317	2 319
30	9 887	2 026
60	7 847	1 608
120	6 227	1 276
240	4 943	1 013
480	3 240	664

* D'un point de vue toxicologique, il n'est pas pertinent de déterminer de valeur seuil pour un effet donné (léta, irréversible ou réversible) pour des durées d'exposition inférieures à 10 minutes. Ceci s'explique en raison de la physiologie respiratoire et les apnées réflexes mis en jeu en cas d'exposition à des substances irritantes par inhalation.

Ainsi, la valeur du seuil de toxicité aiguë pour une exposition d'une minute est purement une donnée mathématique calculée sans réelle valeur toxicologique.

◆ **Seuils des premiers effets létaux**

TEMPS (min)	SPEL	
	mg.m ⁻³	ppm
1*	23 151	4 744
10	10 746	2 202
20	8 530	1 748
30	7 452	1 527
60	5 915	1 212
120	4 695	962
240	3 723	763
480	2 440	500

◆ **Seuils d'effets irréversibles**

TEMPS (min)	SEI _c	
	mg.m ⁻³	ppm
1*	2 572	527
10	1 194	245
20	948	194
30	828	170
60	657	135
120	522	107
240	414	85
480	271	56

SEI_c : Seuils des effets irréversibles calculatoires

* D'un point de vue toxicologique, il n'est pas pertinent de déterminer de valeur seuil pour un effet donné (létaux, irréversible ou réversible) pour des durées d'exposition inférieures à 10 minutes. Ceci s'explique en raison de la physiologie respiratoire et les apnées réflexes mis en jeu en cas d'exposition à des substances irritantes par inhalation.

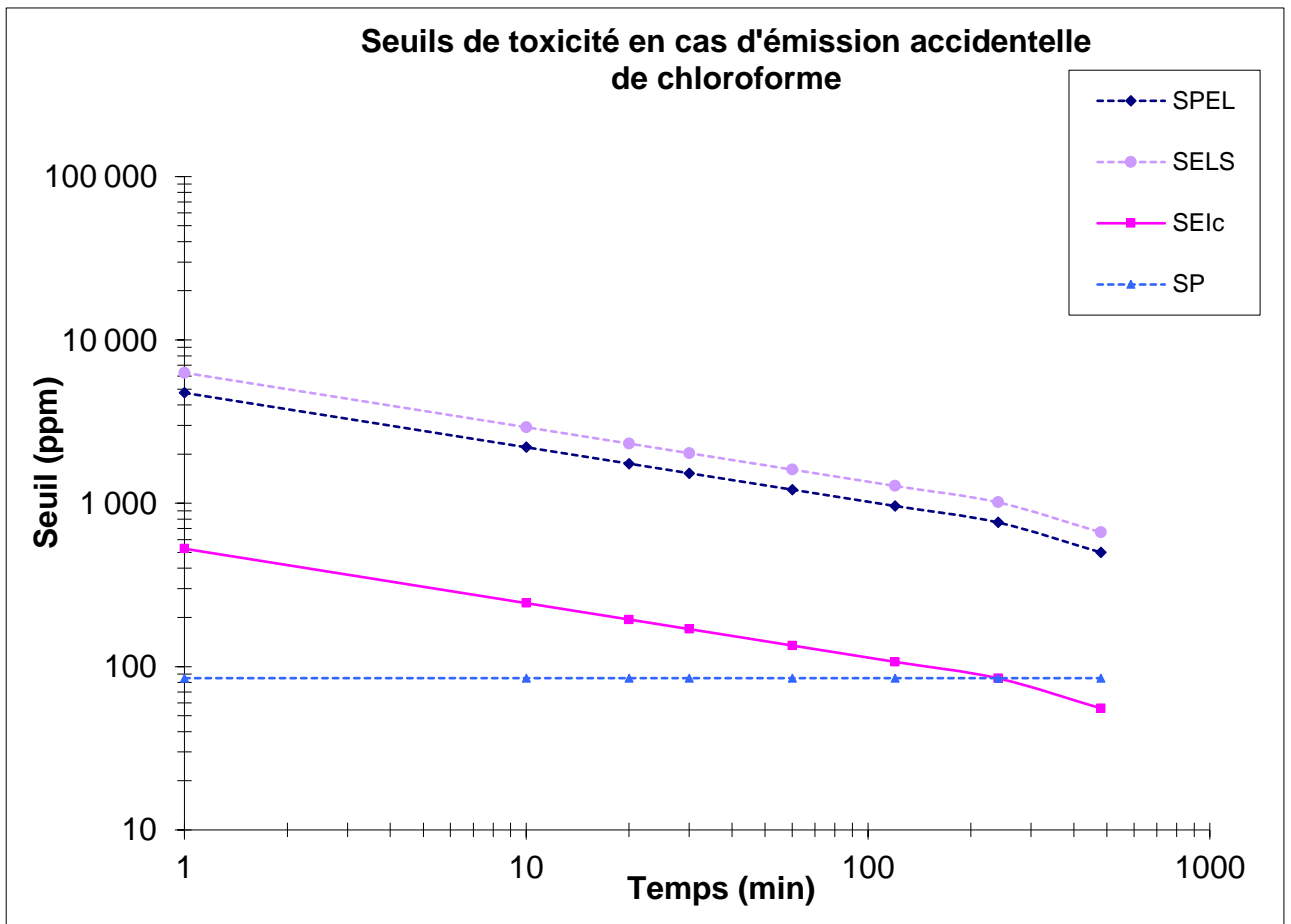
Ainsi, la valeur du seuil de toxicité aiguë pour une exposition d'une minute est purement une donnée mathématique calculée sans réelle valeur toxicologique.

◆ **Seuils d'effets réversibles**

Les seuils d'effet réversibles n'ont pas pu être calculés.

◆ **Seuil de perception**

Le seuil olfactif proposé est de 85 ppm (odeur éthérée caractéristique).



2. INTRODUCTION

Dans le cadre de la prévention des risques liés à des émissions accidentelles dans l'atmosphère de substances chimiques dangereuses, les gestionnaires de risques souhaitent disposer de seuils de toxicité aiguë qui seront le plus souvent utilisés associés à des scénarios d'accidents pour des études de dangers et pour l'élaboration de plans d'urgence.

Les définitions des seuils de toxicité ont été actées le 20 août 2003, au sein du groupe d'experts toxicologues composé de représentants de l'Administration, de l'INERIS et de l'Industrie Chimique et sont reprises dans la méthodologie révisée de décembre 2007.

Trois types d'effets toxiques ont été définis :

- ✓ les "*effets létaux*" qui correspondent à la survenue de décès,
- ✓ les "*effets irréversibles*" qui correspondent à la persistance dans le temps d'une atteinte lésionnelle ou fonctionnelle, directement consécutive à une exposition,
- ✓ les "*effets réversibles*" qui correspondent à un retour à l'état de santé antérieur à l'exposition.

Les couples concentration - durée d'exposition associés à ces effets permettent de déterminer les seuils de toxicité aiguë que sont les "**seuils des effets létaux significatifs**" (SELS), les "**seuils des premiers effets létaux**" (SPEL), les "**seuils des effets irréversibles**" (SEI), les "**seuils des effets réversibles**" (SER) et le "**seuil de perception**" (SP).

- ✓ le « **seuil des effets létaux significatifs** » (SELS) correspond à la concentration dans l'air, pour une durée d'exposition donnée, au-dessus de laquelle on pourrait observer 5% de mortalité au sein de la population exposée.
- ✓ le « **seuil des premiers effets létaux** » (SPEL) correspond à la concentration dans l'air, pour une durée d'exposition donnée, au-dessus de laquelle on pourrait observer 1% de mortalité au sein de la population exposée.
- ✓ le « **seuil des effets irréversibles** » (SEI) correspond à la concentration dans l'air, pour une durée d'exposition donnée, au-dessus de laquelle des effets irréversibles pourraient apparaître au sein de la population exposée.
- ✓ le « **seuil des effets réversibles** » (SER) correspond à la concentration dans l'air, pour une durée d'exposition donnée, au-dessus de laquelle la population exposée pourrait présenter des effets réversibles.
- ✓ le « **seuil de perception** » (SP) correspond à la concentration dans l'air entraînant la détection sensorielle de la substance chimique par la population exposée.

NB : *Au sein de la population exposée, les sujets "hypersensibles" ne sont pas considérés (par exemple, les insuffisants respiratoires).*

Les seuils sont élaborés en suivant la "Méthodologie de détermination des seuils des effets létaux, des effets irréversibles, des effets réversibles et de perception lors d'émission accidentelle d'une substance chimique dans l'atmosphère qui a été adoptée le 20 novembre 2003, révisé en décembre 2007 et consultable sur le site Internet de l'INERIS (www.ineris.fr).

3. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ET USAGES

Les principales caractéristiques physico-chimiques du chloroforme sont rassemblées dans le tableau ci-dessous :

Paramètre	Valeur/description	Référence
Nom chimique	Chloroforme, trichlorométhane, méthane trichloro-	Budavari <i>et al.</i> , 1996 ; NRC, 2012
Numéro CAS	67-66-3	
Numéro EINECS	200-663-8	
Formule chimique	CHCl ₃	
Etat physique (température ambiante)	Liquide (incolore)	
Poids moléculaire	119,39	
Tension de vapeur	159,6 mmHg à 20°C	
Concentration de vapeur saturante à 20°C	12397,2 g.m ⁻³ soit environ 2,6.10 ⁶ ppm	Voir formule**
Densité vapeur (air=1)	1,484 g/mL à 20°C	Budavari <i>et al.</i> , 1996 ; NRC, 2012
Solubilité (eau)	1 mL/200 mL d'eau à 20°C	
Température d'ébullition	61 - 62°C	
Température de fusion	- 63,5°C	
Limite d'explosivité	-	
Point éclair	-	
Conversion	1 ppm = 4,88 mg/m ³ 1 mg/m ³ = 0,21 ppm à 25°C	

**Calcul de la concentration de vapeur saturante à 20°C :

$$C_{\text{vapeur saturante}} (\text{g.m}^{-3}) = (P * MM) / (R * T)$$

avec P (pression de vapeur) = 189 317,24 Pa

MM (masse molaire) = 119,39 g.mol⁻¹

R (constante des gaz parfaits) = 8,314 J. mol⁻¹.K⁻¹

T (température) = 293,15 K

Le chloroforme est un composé chimique organochloré d'origines naturelle et anthropique. Toutefois, ses émissions dans l'environnement sont, avant tout, dues à des sources naturelles (majoritairement depuis l'eau de mer) (McCulloch, 2003).

Il est surtout employé comme agent de synthèse du chlorodifluorométhane, lui-même utilisé comme fluide frigorigène (HCFC-22). Le chloroforme est également utilisé en tant que solvant et dans la fabrication de certains plastiques. Ainsi, même si le HCFC-22 est définitivement interdit d'utilisation dans le cadre de la protection de la couche d'ozone stratosphérique, la demande en chloroforme devrait rester constante à cause de l'augmentation de la demande en fluoropolymères. Le chloroforme était autrefois largement utilisé comme anesthésiant mais cet usage est aujourd'hui interdit.

Par ailleurs, le chloroforme se forme par action du chlore sur la matière organique présente dans les eaux de surface. Ainsi, jusqu'à récemment, les divers traitements de l'eau (potabilisation, circuits de refroidissements) ou de désinfection industrielle au chlore ont été l'une des principales sources anthropiques de chloroforme.

Dans l'environnement, la quasi-totalité du chloroforme, se trouve dans le compartiment atmosphérique en raison de sa grande volatilité et de sa faible capacité d'adsorption.

4. VALEURS OFFICIELLES EXISTANTES

En **France**, l'émission accidentelle de chloroforme n'a pas encore fait l'objet d'un examen.

Aux **Etats-Unis**, l'**A.I.H.A.** (American Industrial Hygienist Association) publie des valeurs **ERPG** (Emergency Response Planning Guidelines) en cas d'émission de substances toxiques pour une exposition d'une heure.

L'**A.I.H.A.** définit trois seuils d'effets correspondant à trois niveaux : ERPG-1, ERPG-2, ERPG-3. Les définitions sont les suivantes :

- ✓ **ERPG-1** : concentration atmosphérique maximale en-dessous de laquelle il est probable que presque tous les individus pourraient être exposés pendant plus d'une heure sans ressentir davantage que des légers effets transitoires ou détecter une odeur.
- ✓ **ERPG-2** : concentration atmosphérique maximale en-dessous de laquelle il est probable que presque tous les individus pourraient être exposés pendant plus d'une heure sans ressentir ou développer d'effets irréversibles ou incapacitants.
- ✓ **ERPG-3** : concentration atmosphérique maximale en-dessous de laquelle il est probable que presque tous les individus pourraient être exposés pendant plus d'une heure sans ressentir ou développer d'effet menaçant sa vie.

Pour le chloroforme, les valeurs des ERPG (AIHA, 2015) pour 1h d'exposition sont :

- ✓ **ERPG-1** : NA
- ✓ **ERPG-2** : 50 ppm
- ✓ **ERPG-3** : 5 000 ppm

De plus, le comité **AEGL** (Acute Exposure Guideline Levels) a publié au Federal Register de 2012 les valeurs AEGL du chloroforme. Ces valeurs ont le statut de "final" AEGL. Les définitions de ces valeurs AEGL sont :

- ✓ **AEGL 1** : concentration d'une substance chimique dans l'air (exprimée en ppm ou mg/m³) au-dessus de laquelle la population générale, individus sensibles inclus, pourrait présenter des signes d'inconfort notable, d'irritation ou tout autre signe non-sensoriel et asymptomatique. Ces effets sont transitoires, non-invalidants et réversibles après cessation de l'exposition.
- ✓ **AEGL 2** : concentration d'une substance chimique dans l'air (exprimée en ppm ou mg/m³) au-dessus de laquelle des effets irréversibles, des effets nocifs sévères ou des effets délétères à long terme pourraient être observés au sein de la population générale, individus sensibles inclus.
- ✓ **AEGL 3** : concentration d'une substance chimique dans l'air (exprimée en ppm ou mg/m³) au-dessus de laquelle des effets potentiellement mortels ou des décès pourraient survenir au sein de la population générale, individus sensibles inclus.

Les valeurs AEGL finalisées (2012) pour le chloroforme sont les suivantes :

Durée (min)	10	30	60	240	480
AEGL-1 (ppm)	NR	NR	NR	NR	NR
AEGL-2 (ppm)	120	80	64	40	29
AEGL-3 (ppm)	4 000	4 000	3 200	2 000	1 600

NR : Non Recommandée

Il existe également une valeur seuil IDLH (1987) correspondant à un niveau d'exposition maximale en milieu professionnel pour une durée de 30 minutes n'entravant pas l'évacuation des individus, ni n'induisant d'effets nocifs irréversibles. Pour le chloroforme, cette valeur était initialement de 1000 ppm mais a été révisée à **500 ppm** en 1994. La valeur révisée provient de l'utilisation de données d'inhalation aiguë chez l'homme.

D'autres valeurs sont également publiées par divers organismes :

- Valeurs **EEL** (Emergency Exposure Limit) établies par le National Research Council (NRC, 2000a) :
 - EEL (effets réversibles) 60 minutes : 100 ppm
- Valeurs **SMAC** (Spacecraft Maximum Allowable Concentration) Emergency Exposure Limit) établies par le National Aeronautics and Space Administration (NRC, 2000b) :
 - SMAC (effets réversibles) 60 minutes : 2 ppm

Classification harmonisée du chloroforme (tableau 3.1 de l'annexe II du règlement (UE) n°944/2013 modifiant aux fins de son adaptation au progrès technique et scientifique, le règlement (CE) n°1272/2008)

Classe et catégorie de danger	Mention de danger
Acute Tox. 4	H302 Nocif en cas d'ingestion
Acute Tox. 3	H331 Toxique par inhalation
Skin Irrit. 2	H315 Provoque une irritation cutanée
Eye Irrit. 2	H319 Provoque une sévère irritation des yeux
Carc. 2	H351 Susceptible de provoquer le cancer
Repr. 2	H361d Susceptible de nuire au fœtus
STOT RE 1	H372 Risque avéré d'effets graves pour les organes à la suite d'exposition répétées ou d'une exposition prolongée

Classification notifiée par les déclarants du chloroforme du dossier d'enregistrement REACH¹ (consulté en juin 2020)

Classe et catégorie de danger	Mention de danger
Acute Tox. 4	H302 Nocif en cas d'ingestion
Acute Tox. 4	H332 Nocif par inhalation
Skin Irrit. 2	H315 Provoque une irritation cutanée
Eye Irrit. 2	H319 Provoque une sévère irritation des yeux
Carc. 2	H351 Susceptible de provoquer le cancer
Repr. 2	H361d Susceptible de nuire au fœtus
STOT SE 3	H336 Peut provoquer somnolence ou vertiges
STOT RE 2	H373 Risque présumé d'effets graves pour les organes (foie, reins) à la suite d'exposition répétées ou d'une exposition prolongée

¹ Inventaire de classification de l'Agence Européenne des produits chimiques (novembre 2020), <https://echa.europa.eu/fr/registration-dossier/-/registered-dossier/14963/2/1/?documentUUID=af6c8791-3fa7-4f46-a842-c512846b24d4>

5. DONNEES DE TOXICITE CHEZ L'HOMME

La cible principale du chloroforme est le système nerveux central. Les symptômes principalement rapportés sont des nausées, une perte d'appétit, une jaunisse transitoire, des troubles du rythme cardiaque, une hypotension artérielle, une hémolyse intravasculaire, une dépression respiratoire, une perte de conscience et un arrêt respiratoire dans les cas les plus sévères (Hutchens et Kung, 1985).

5.1 DONNEES EPIDEMIOCLINIQUES

✓ Lehmann et Flury, 1943

Les auteurs rapportent qu'une exposition à 389 ppm de chloroforme pendant 30 minutes est bien tolérée sans symptôme, mais en revanche, qu'une exposition à une concentration de 1 030 ppm induit des étourdissements, une hypertension intracrânienne et des nausées dans les 7 minutes suivant l'exposition et des maux de tête qui ont persistés pendant plusieurs heures.

✓ Whitaker et Jones, 1965

Les effets cliniques induits suite à l'anesthésie de 1 502 patients de chirurgie ont été analysés. Bien que la durée de l'anesthésie soit variable (inférieure à 30 minutes (77 % des cas) jusqu'à plus de 2 heures), la concentration de chloroforme n'a jamais dépassée 22 500 ppm. Les effets cliniques principalement observés sont les suivants : tachypnée, bradycardie, arythmies cardiaques et hypotension. Un cas d'ictère transitoire a également été rapporté.

✓ Smith *et al.*, 1973

Les effets cliniques induits suite à l'anesthésie de 58 patients ont également été étudiés par Smith *et al.* (1973). Les 58 patients ont été exposés à des concentrations en chloroforme comprises entre 8 500 ppm et 13 000 ppm pendant 112 ± 60 minutes. Des altérations transitoires de la fonction hépatique ont été rapportées ainsi que des tachycardies ventriculaires. Par ailleurs, 46 % des patients ont souffert de nausées et de vomissements.

Toutefois, les résultats de cette étude sont difficilement interprétables suite à l'utilisation de médicaments en prémédication (diazépam et pentobarbital ou hydroxyzine et pentobarbital).

✓ Snyder et Andrews, 1996

Les auteurs rapportent que l'homme est susceptible de tolérer une exposition de 400 ppm de chloroforme pendant 30 minutes sans présenter aucun symptôme. En revanche, une exposition de 1 000 ppm pendant 7 minutes induit des vertiges et des troubles gastro-intestinaux. L'exposition à une concentration de 14 000 ppm (durée d'exposition non précisée) provoque une narcose.

5.2 DONNEES EXPERIMENTALES CHEZ LES VOLONTAIRES SAINS

✓ Lehmann et Hasegawa, 1910

Une étude a été réalisée chez des sujets exposés à des concentrations contrôlées de chloroforme. Les résultats de cette étude montrent :

- qu'une exposition de 3 minutes au chloroforme à 920 ppm induit des vertiges et des étourdissements,
- une exposition de 30 minutes à 680 ppm produit une odeur modérée à forte,
- une exposition de 30 minutes à 1 400 ppm induit des étourdissements, des vertiges, de la lassitude, et des maux de tête,
- une exposition de 30 minutes à 3000 ppm entraîne des palpitations cardiaques,
- et enfin, une exposition à 5 100 ppm pendant 20 minutes ou à 7200 ppm pendant 15 minutes, induit des étourdissements ainsi qu'une intolérance à la lumière.

Il est toutefois important de signaler que ces observations sont issues de trois sujets uniquement et que les méthodes d'exposition et de mesures sont indisponibles.

6. DONNEES DE TOXICITE CHEZ L'ANIMAL

6.1 ETUDE DES EFFETS LETAUX

La cotation des études selon les critères de classification de Klimisch est reportée à la suite de la présentation de l'étude (cotation "x") associée à une brève justification de la valeur de l'indice retenue.

6.1.1 CHEZ LES RONGEURS : RAT, SOURIS ET COBAYE

6.1.1.1 RAT

- **Kasai et al. (2002) - Cotation 2** (Etude de bonne qualité, protocole similaire aux lignes directrices OCDE, non BPL, conditions expérimentales détaillées, exposition répétée mais la mortalité a été rapportée dès le 1er jour)
 - ✓ **Espèce étudiée** : rat F344/DuCrj
 - ✓ **Conditions expérimentales** : dans le cadre d'une étude de toxicité sub-aiguë, les rats sont exposés à un mélange d'air et de vapeurs de chloroforme dans une chambre d'exposition de 4 300 litres (1 animal par cage). Le mélange vapeur-air saturé a été généré en faisant barboter de l'air à travers un ballon rempli de chloroforme à température régulée. Le flux d'air contenant la vapeur saturée a été dilué avec de l'air propre et le débit du mélange vapeur-air a été régulé avec un débitmètre. Les concentrations de chloroforme dans la chambre ont été contrôlées par chromatographie en phase gazeuse toutes les 15 minutes.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 500 - 1 000 - 2 000 - 4 000 - 8 000 ppm
 - ✓ **Temps d'exposition** : 6 heures/jour, 5 jours/semaine, pendant 2 semaines
 - ✓ **Temps d'observation** : dans le cadre de cette étude sub-aiguë, les animaux étant exposés chaque jour, la mortalité induite par la première exposition ne peut être observée que jusqu'à la deuxième exposition, soit un jour.
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 10 rats par sexe
 - ✓ **Lot témoin** : oui (10 mâles et 10 femelles)
 - ✓ **Résultats** : Tous les rats mâles et femelles exposés à 2 000 ppm et plus sont morts après le premier ou le deuxième jour d'exposition. Le tableau ci-après rapporte les données de mortalité ainsi que le jour de survenue :

Concentration (ppm)	Mortalité (au 1 ^{er} jour)		Mortalité cumulée (au 2 ^{ème} jour)	
	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles
500	0/10	0/10	0/10	0/10
1 000	0/10	0/10	0/10	0/10
2 000	9/10	8/10	10/10	10/10
4 000	9/10	9/10	10/10	10/10
8 000	10/10	10/10	10/10	10/10

Dans le cadre de l'établissement de seuils de toxicité aiguë, seule la mortalité observée au premier jour sera retenue.

- **Lundberg et al., 1986 - Cotation 3** (peu de détails sur les résultats expérimentaux et protocole non détaillé)
 - ✓ **Espèce étudiée** : rat Sprague-Dawley
 - ✓ **Conditions expérimentales** : les concentrations d'exposition de la chambre d'exposition sont contrôlées par détection infrarouge.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : non précisé
 - ✓ **Temps d'exposition** : 4 heures
 - ✓ **Temps d'observation** : 24 heures
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 10 femelles
 - ✓ **Lot témoin** : non précisé
 - ✓ **Résultats** : La CL_{50%} pour 4 heures d'exposition est de 47 702 mg/m³ (9 775 ppm) (intervalle de confiance 95% : 43 741 – 52 024 mg/m³).

- **Bonnet et al., 1980 - Cotation 3** (peu de détails expérimentaux, aucune information sur les concentrations d'exposition)
 - ✓ **Espèce étudiée** : rat Sprague-Dawley
 - ✓ **Conditions expérimentales** : Les rats ont été exposés aux vapeurs de chloroforme dans des cellules à atmosphère contrôlée traversée par un flux d'air laminaire. Des échantillons d'atmosphère sont prélevés toutes les 3 minutes et analysés par chromatographie gazeuse.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : non précisé
 - ✓ **Temps d'exposition** : 6 heures
 - ✓ **Temps d'observation** : 14 jours
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 12 mâles
 - ✓ **Lot témoin** : non
 - Résultats** : La CL_{50%} pour 6 heures d'exposition est de 9 170 mg/m³ (1 849 ppm) (intervalle de confiance 95% : 8 690 – 9 700 mg/m³). Les auteurs ont déterminé la droite de régression montrant l'évolution de la mortalité en fonction de la concentration : $y = 12,7 x + 36,4$. Par ailleurs, les auteurs ont également signalé l'apparition de mortalité retardée entre le 2^{ème} et 8^{ème} jour.

- **Haskell Laboratory, 1964 - Cotation 3** (peu de détails expérimentaux, absence de contrôle analytique des concentrations, étude source non disponible)
 - ✓ **Espèce étudiée** : rat (souche non précisée)
 - ✓ **Conditions expérimentales** : les concentrations d'exposition n'ont pas été analysées. L'atmosphère de la chambre d'exposition a été générée par un nébuliseur après chauffage du chloroforme.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 3 000, 3 700 et 5 000 ppm.
 - ✓ **Temps d'exposition** : 4 heures
 - ✓ **Temps d'observation** : 14 jours
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 4 rats par concentration (sexe non précisé)
 - ✓ **Lot témoin** : non précisé

- ✓ **Résultats** : les données de mortalité pour les concentrations respectives de 3 000, 3 700 et 5 000 sont de : 0/4, 3/4 et 3/4.
- **Smyth *et al.*, 1962 - Cotation 3** (peu de détails expérimentaux, absence de contrôle analytique des concentrations et seule une concentration d'exposition dont les données sont utilisables).
 - ✓ **Espèce étudiée** : rat albinos (souche non précisée)
 - ✓ **Conditions expérimentales** : les concentrations d'exposition n'ont pas été analysées.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : deux expérimentations : 8 000 ppm et concentration à vapeur saturante (soit autour de 25 000 ppm).
 - ✓ **Temps d'exposition** : 5 minutes et 4 heures
 - ✓ **Temps d'observation** : non précisé
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 6 rats par concentration (sexe non précisé)
 - ✓ **Lot témoin** : non précisé
 - ✓ **Résultats** : l'exposition à la concentration de 25 000 ppm pendant 5 minutes a induit la mort de l'ensemble des rats exposés. A la concentration de 8 000 ppm pendant 4 heures, seul un rat a survécu.

6.1.1.2 SOURIS

- **Gehring, 1968 - Cotation 2** (l'étude de mortalité est de bonne qualité ; le protocole est comparable à un protocole standardisé ; toutefois aucune information sur le temps d'observation n'est indiquée dans la publication)
 - ✓ **Espèce étudiée** : souris Swiss-Webster
 - ✓ **Conditions expérimentales** : les concentrations ont été calculées sur la base des quantités de chloroforme chauffé jusqu'à volatilisation complète. Les vapeurs sont ensuite diffusées par un flux d'air continu dans la chambre d'exposition. Les concentrations en chloroforme sont contrôlées par spectrométrie infrarouge. Dans le cas où un écart supérieur à 7% par rapport à la concentration d'exposition désirée est constaté, l'essai est alors répété.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 4 500 ppm
 - ✓ **Temps d'exposition** : 5 à 800 minutes
 - ✓ **Temps d'observation** : non précisé
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 30 souris femelles (10 pour l'étude de la narcose et 20 pour l'étude de la mortalité)
 - ✓ **Lot témoin** : oui (254 souris contrôle)
 - ✓ **Résultats** : La CL_{50%} estimée chez la souris pour 560 minutes d'exposition est de 4 500 ppm (intervalle de confiance 95% : 540 – 585 minutes). La mortalité à 4 500 ppm était de l'ordre de 5% après 400 minutes d'exposition, 25 % après 500 minutes, 60 % après 600 minutes et 80 % après 700 minutes.
Une CE_{50%} chez la souris exposée à 4 500 ppm est atteinte suite à une exposition de 35 minutes pour des effets narcotiques (intervalle de confiance 95% : 31,0-39,6 minutes) et 13,5 minutes pour une augmentation de l'activité des transaminases hépatiques (intervalle de confiance 95% : 10,1-18,1 minutes).

La pente des relations dose-réponse pour les effets narcotiques et la mortalité sont identiques. Les données suggèrent que pour une même concentration de chloroforme de 4 500 ppm, il existe une différence d'un facteur 16 entre les effets narcotiques (35 minutes) et la mortalité (560 minutes).

- **Kasai et al. (2002) - Cotation 2** (Etude de bonne qualité, protocole similaire aux lignes directrices OCDE, non BPL, conditions expérimentales détaillées, exposition répétée mais la mortalité a été rapportée dès le 1^{er} jour)
 - ✓ **Espèce étudiée** : souris Crj:BDF1
 - ✓ **Conditions expérimentales** : dans le cadre d'une étude de toxicité sub-aiguë, les souris sont exposées à un mélange d'air et de vapeurs de chloroforme dans une chambre d'exposition de 4 300 litres (1 animal par cage). Le mélange vapeur-air saturé a été généré en faisant barboter de l'air à travers un ballon rempli de chloroforme à température régulée. Le flux d'air contenant la vapeur saturée a été dilué avec de l'air propre et le débit du mélange vapeur-air a été régulé avec un débitmètre. Les concentrations de chloroforme dans la chambre ont été contrôlées par chromatographie en phase gazeuse toutes les 15 minutes.

Tous les organes des animaux survivants au 14^{ème} jour ont été prélevés et pesés à l'autopsie, et un examen macroscopique a été réalisé. Une analyse histopathologique a été réalisée en cas de lésions à l'examen macroscopique.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 500 - 1 000 - 2 000 - 4 000 - 8 000 ppm
 - ✓ **Temps d'exposition** : 6 heures/jour, 5 jours/semaine, pendant 2 semaines
 - ✓ **Temps d'observation** : dans le cadre de cette étude sub-aiguë, les animaux étant exposés chaque jour, la mortalité induite par la première exposition ne peut être observée que jusqu'à la deuxième exposition, soit un jour.
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 10 souris par sexe
 - ✓ **Lot témoin** : oui (10 mâles et 10 femelles)

- ✓ **Résultats** : Toutes les souris mâles (sauf 2 qui ont survécus aux expositions pendant 2 semaines) sont mortes après le premier ou le deuxième jour d'exposition à 500 ppm ou plus. Toutes les souris femelles exposées à 500 ppm ont survécu, et une souris femelle exposée à 1 000 ppm a survécu après une exposition de 2 semaines. Le tableau ci-après rapporte les données de mortalité ainsi que le jour de survenue :

Concentration (ppm)	Mortalité (au 1 ^{er} jour)		Mortalité cumulée (du 2 ^{ème} au 6 ^{ème} jour)	
	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles
500	0/10	0/10	9/10 [2 ^{ème} jour]	0/10
1 000	0/10	0/10	9/10 [2 ^{ème} jour]	9/10 [4/10 au 4 ^{ème} jour, 4/10 au 5 ^{ème} jour et 1/10 au 6 ^{ème} jour]
2 000	0/10	0/10	10/10 [2 ^{ème} jour]	10/10 [6/10 au 2 ^{ème} jour, 2/10 au 4 ^{ème} jour et 2/10 au 5 ^{ème} jour]
4 000	1/10	0/10	10/10 [2 ^{ème} jour]	10/10 [au 2 ^{ème} jour]
8 000	10/10	10/10	10/10	10/10

Dans le cadre de l'établissement de seuils de toxicité aigu, seule la mortalité observée au premier jour sera retenue.

- **Gradiski et al., 1978 - Cotation 3** (peu de détails expérimentaux, aucune information sur les concentrations d'exposition).
 - ✓ **Espèce étudiée** : souris OF1
 - ✓ **Conditions expérimentales** : Les souris ont été exposées aux vapeurs de chloroforme dans des cellules à atmosphère contrôlée traversée par un flux d'air laminaire. La concentration en toxique est mesurée en permanence par chromatographie gazeuse. La précision sur la concentration est de l'ordre de 5 %.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : non précisé
 - ✓ **Temps d'exposition** : 6 heures
 - ✓ **Temps d'observation** : 14 jours
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 20 femelles
 - ✓ **Lot témoin** : non
 - ✓ **Résultats** : La CL_{50%} pour 6 heures d'exposition est de 1 260 ppm (intervalle de confiance 95% : 1 229 – 1 292), soit 6 250 mg/m³ (intervalle de confiance 95% : 6 100 – 6 410). La mortalité débute le 5^{ème} jour et s'achève le 11^{ème} jour.

- **Deringer *et al.*, 1953 - Cotation 3** (aucun détail expérimental concernant les conditions d'exposition des animaux ainsi que les concentrations précises d'exposition)
 - ✓ **Espèce étudiée** : Souris C3H (âgées de 2 ou 8 mois)
 - ✓ **Conditions expérimentales** : Les souris ont été observées quotidiennement pour les décès ou la morbidité. Un examen macroscopique a été réalisé chez toutes les souris moribondes ou mortes.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 692 - 1 106 ppm
 - ✓ **Temps d'exposition** : 1, 2 ou 3 heures
 - ✓ **Temps d'observation** : non précisé (environ 18 mois)
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 6 par sexe et par âge (2 mois et 8 mois)
 - ✓ **Lot témoin** : oui (22 souris mâles et 20 souris femelles)
 - ✓ **Résultats** : Quelle que soit la concentration ou la durée d'exposition, toutes les souris mâles (sauf une) ont présenté des signes de lésions rénales (nécrose et calcification des tubules proximaux et distaux). Onze jours après exposition au chloroforme, 15/18 souris mâles âgées de 8 mois exposées sont mortes et 7/18 souris mâles âgées de 2 mois. Les souris restantes sont mortes dans les 5 à 18 mois après exposition. Par ailleurs, une nécrose hépatique a également été observée chez les souris exposées à des concentrations de 942-1 106 ppm qui sont mortes dans les 6 jours.

Cette étude montre que l'exposition des souris mâles à des concentrations de 692 ppm de chloroforme pendant 3 heures ou des concentrations de 921 ppm pendant 1 heure a induit de graves lésions rénales et des décès.

- **Von Oettingen *et al.*, 1949 - Cotation 3** (peu de détails expérimentaux, les concentrations précises d'exposition ne sont pas connues)
 - ✓ **Espèce étudiée** : Souris (souche non précisée)
 - ✓ **Conditions expérimentales** : chaque souris est exposée dans une chambre dans laquelle le chloroforme est vaporisé afin d'obtenir la concentration désirée. Les concentrations ont été contrôlées analytiquement.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 4 915 à 7 372 ppm
 - ✓ **Temps d'exposition** : 7 heures
 - ✓ **Temps d'observation** : non précisé
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 20 souris au total (sexe non précisé)
 - ✓ **Lot témoin** : non
 - ✓ **Résultats** : La CL_{50%} estimée chez la souris pour 7 heures d'exposition est de 5 687 ppm. La CL_{30%} et la CL_{90%} sont respectivement de 5 529 et 6 963 ppm.

Les souris ont présenté une dépression progressive du système nerveux central rapidement suivie d'une narcose. Les morts apparaissent après 3 à 5 heures d'exposition.

- **Fühner, 1923 - Cotation 3** (l'article complet, non disponible, est en allemand)
 - ✓ **Espèce étudiée** : souris (souche non rapportée)
 - ✓ **Conditions expérimentales** : chaque souris est exposée dans une chambre dans laquelle le chloroforme est vaporisé afin d'obtenir la concentration désirée. Les concentrations n'ont pas été contrôlées analytiquement.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 2 458 à 7 782 ppm
 - ✓ **Temps d'exposition** : 13 à 215 minutes
 - ✓ **Temps d'observation** : non précisé
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 30 souris au total (sexe non rapporté)
 - ✓ **Lot témoin** : non
 - ✓ **Résultats** : Cinq souris exposées à des concentrations de 2 458 à 5 120 ppm ont présenté une perte de reflexe après 48 à 215 minutes d'exposition mais aucun mort n'est constaté.

Pour des expositions de 4 710 à 5 529 ppm, une perte de reflexe est rapportée après 30 à 90 minutes d'exposition ; 6 des 18 souris exposées sont mortes et les 12 restantes ont récupéré.

Six des sept souris exposées à des concentrations de 6 758 à 7 782 ppm ont présenté une perte de réflexe après 13 à 46 minutes d'exposition et une souris est morte après 35 minutes.

Quatre souris additionnelles ont été exposées à 5 585 ppm de chloroforme pendant 120 ou 135 minutes. Les trois souris exposées pendant 120 minutes sont mortes après 105, 130 et 140 minutes à partir du début de l'exposition. La souris exposée pendant 135 minutes est morte 95 minutes après le début de l'exposition.

6.1.1.3 COBAYE

Il n'existe pas de donnée de toxicité aiguë létale publiée dans les bases de données bibliographiques et/ou toxicologiques (OMS, IARC, US EPA, etc.).

6.1.2 CHEZ LE LAPIN

Il n'existe pas de donnée de toxicité aiguë létale publiée dans les bases de données bibliographiques et/ou toxicologiques (OMS, IARC, US EPA, etc.).

6.1.3 CHEZ LE CHIEN

- **Von Oettingen *et al.*, 1949 - Cotation 3** (très peu de détails sur les conditions d'exposition sont disponibles)
 - ✓ **Espèce étudiée** : chien beagles
 - ✓ **Conditions expérimentales** : Les conditions d'exposition ne sont pas précisées.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 15 000 ppm (nominale), 14 376 ppm (analytique)
 - ✓ **Temps d'exposition** : 6 à 285 minutes
 - ✓ **Temps d'observation** : non précisé
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 10 (sexe non précisé)
 - ✓ **Lot témoin** : non précisé

- ✓ **Résultats** : La durée moyenne de survie est de 202 minutes (de 60 à 285 minutes).
- **Whipple et Sperry, 1909 - Cotation 3** (aucun détail sur les conditions d'exposition n'est disponible, les concentrations d'exposition ne sont pas rapportées)
 - ✓ **Espèce étudiée** : chien (fox terrier, scotch terrier)
 - ✓ **Conditions expérimentales** : non précisé
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 1 à 3 onces (soit 28 à 85 g)
 - ✓ **Temps d'exposition** : 90 à 150 minutes
 - ✓ **Temps d'observation** : 4 à 6 jours
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 10 à 32 mâles
 - ✓ **Lot témoin** : non précisé
 - ✓ **Résultats** : Dans cette étude plusieurs chiens sont morts aux différentes concentrations d'exposition. Les données n'ont pas permis d'établir une relation dose-effet.

6.1.4 CHEZ LES PRIMATES NON HUMAINS

Il n'existe pas de donnée de toxicité aiguë létale publiée dans les bases de données bibliographiques et/ou toxicologiques (OMS, IARC, US EPA, etc.).

6.2 ETUDE DES EFFETS NON LETAUX

6.2.1 CHEZ LES RONGEURS : RAT, SOURIS ET COBAYE

6.2.1.1 RAT

- **Wang et al., 1997 - Cotation 2** (Les conditions expérimentales et le protocole sont bien décrits et conformes aux protocoles standardisés)
 - ✓ **Espèce étudiée** : rat Wistar
 - ✓ **Conditions expérimentales** : les concentrations d'exposition de la chambre d'exposition sont contrôlées toutes les 15 minutes par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme. Les concentrations mesurées s'écartent de plus ou moins 5 % des concentrations cibles.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 50, 100 ou 500 ppm
 - ✓ **Temps d'exposition** : 6 heures
 - ✓ **Temps d'observation** : 24 heures
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 5 mâles
 - ✓ **Lot témoin** : 5 mâles
 - ✓ **Résultats** : L'activité enzymatique (GOT et GPT) et les concentrations en glutathion (GSH) n'ont pas été significativement modifiées suite à l'exposition à 50 ou 100 ppm de chloroforme. En revanche, une augmentation significative de l'activité enzymatique de la GOT et GPT (1,2 à 1,6 fois) a été observée pour la concentration de 500 ppm. D'après les auteurs, cette augmentation ne doit pas être considérée comme indicative d'une hépatotoxicité sévère.

- **Ikatsu et Nakajima, 1992 - Cotation 2** (Les conditions expérimentales et le protocole sont bien décrits et conformes aux protocoles standardisés)
 - ✓ **Espèce étudiée** : rat Wistar
 - ✓ **Conditions expérimentales** : les concentrations d'exposition de la chambre d'exposition sont contrôlées toutes les 15 à 30 minutes par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 0, 50 ou 100 ppm
 - ✓ **Temps d'exposition** : 8 heures
 - ✓ **Temps d'observation** : 22 heures
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 4 mâles
 - ✓ **Lot témoin** : 4 mâles
 - ✓ **Résultats** : Les dosages des activités sériques de la SGOT, SGTP et des concentrations hépatiques et sériques de malondialdéhyde n'ont mis en évidence aucun changement significatif pour les deux concentrations testées. L'analyse histopathologique a révélé des dépôts graisseux pour des concentrations de 100 ppm mais qui ont été jugés négligeables par les auteurs.

- **Brondeau et al., 1983 - Cotation 2** (Les conditions expérimentales et le protocole sont bien décrits et conformes aux protocoles standardisés)
 - ✓ **Espèce étudiée** : rat Sprague-Dawley
 - ✓ **Conditions expérimentales** : Les rats ont été placés en corps entier dans la chambre d'exposition et les vapeurs de chloroforme ont été émises avec un flux d'air continu de 10 à 12 m³/h. Les concentrations ont été contrôlées en continu en utilisant deux méthodes : dosage direct par chromatographie gazeuse ou dosage par chromatographie liquide après adsorption sur un support (gel de silice ou charbon de bois).
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 0, 137, 292, 400, 618, 942 ou 1 075 ppm
 - ✓ **Temps d'exposition** : 4 heures
 - ✓ **Temps d'observation** : 24 heures
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 8 mâles
 - ✓ **Lot témoin** : oui
 - ✓ **Résultats** : L'exposition à la plus faible concentration n'a induit aucune modification significative de l'activité sérique des enzymes suivantes : glutamate déshydrogénase (GLDH), transaminase glutamique oxaloacétique (GOT), transaminase glutamique pyruvique (GPT), et le sorbitol déshydrogénase (SDH). En revanche, une augmentation statistiquement significative de l'activité de la GLDH et SDH ont été observés chez des rats exposés à 292 ppm sans qu'une relation dose-effet n'ait pu être démontrée.

- **Brown *et al.*, 1974 - Cotation 2** (Les conditions expérimentales sont bien décrites, et le protocole conforme aux protocoles standardisés)
 - ✓ **Espèce étudiée** : rat Sprague-Dawley
 - ✓ **Conditions expérimentales** : les rats placés dans une chambre d'exposition ont été soumis à un flux continu (6 l/min) de vapeurs de chloroforme. Les concentrations ont été contrôlées par chromatographie gazeuse.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 5 000 ou 10 000 ppm
 - ✓ **Temps d'exposition** : 2 heures
 - ✓ **Temps d'observation** : 18 heures
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 9 rats mâles (5 000 ppm) ou 3 rats mâles (10 000 ppm)
 - ✓ **Lot témoin** : oui (9 rats)
 - ✓ **Résultats** : L'exposition de rats aux concentrations de 5 000 et 10 000 ppm a induit respectivement une diminution des concentrations en glutathion de 70 % et 83 %.

- **Lundberg *et al.*, 1986 - Cotation 3** (Peu de détails sur les résultats expérimentaux et protocole non détaillé)
 - ✓ **Espèce étudiée** : rat Sprague Dawley
 - ✓ **Conditions expérimentales** : les concentrations d'exposition de la chambre d'exposition sont contrôlées par détection infrarouge.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : non précisé mais équivalentes à 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 ou 1/32 de la CL_{50%}
 - ✓ **Temps d'exposition** : 4 heures
 - ✓ **Temps d'observation** : 24 heures
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 6 femelles
 - ✓ **Lot témoin** : oui (24 femelles)
 - ✓ **Résultats** : Une augmentation significative de l'activité sérique de la SDH a été observée à partir de la concentration de 1/64 de la CL_{50%} (soit 153 ppm).

6.2.1.2 SOURIS

- **Gehring, 1968 - Cotation 2** (l'étude est de bonne qualité et le protocole est bien détaillé)
 - ✓ **Espèce étudiée** : souris Swiss-Webster
 - ✓ **Conditions expérimentales** : les concentrations ont été calculées sur la base des quantités de chloroforme chauffé jusqu'à volatilisation complète. Les vapeurs sont ensuite diffusées par un flux d'air continu dans la chambre d'exposition. Les concentrations en chloroforme sont contrôlées par spectrométrie infrarouge. Dans le cas où un écart supérieur à 7% par rapport à la concentration d'exposition désirée est constaté, l'essai est alors répété.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 4 500 ppm
 - ✓ **Temps d'exposition** : 5 à 800 minutes
 - ✓ **Temps d'observation** : non précisé

- ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 30 souris femelles au total (10 pour l'étude de la narcose et 20 pour l'étude de la mortalité, sexe non précisé)
 - ✓ **Lot témoin** : oui (254 souris contrôle pour 7 hydrocarbures chlorés différents dont le chloroforme)
 - ✓ **Résultats** : Une CE_{50%} chez la souris exposée à 4 500 ppm est atteinte suite à une exposition de 35 minutes pour des effets narcotiques (intervalle de confiance 95% : 31,0-39,6 minutes), avec une réponse de 10 % après 15 minutes d'exposition et de 80 % après 40 minutes d'exposition. Une CE_{50%} pour une augmentation de l'activité des transaminases hépatiques est atteinte après 13,5 minutes d'exposition (intervalle de confiance 95% : 10,1-18,1 minutes), avec une réponse de 20 % après 6 minutes d'exposition et de 90 % après 20 minutes d'exposition.
 Sur la base des relations dose-réponse, les auteurs suggèrent que l'augmentation de l'activité des transaminases hépatiques apparait bien avant les effets narcotiques et létaux.
- **Kylin et al., 1963 - Cotation 2** (Les conditions expérimentales sont bien décrites, en revanche aucun contrôle analytique des concentrations)
 - ✓ **Espèce étudiée** : souris albinos
 - ✓ **Conditions expérimentales** : le chloroforme est vaporisé à débit constant dans la chambre d'exposition. Les concentrations n'ont pas été contrôlées analytiquement.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 0, 100, 200, 400, 800 ppm (étude principale) ou 3 000 ppm (étude pilote)
 - ✓ **Temps d'exposition** : 4 heures
 - ✓ **Temps d'observation** : 24 à 72 heures (étude principale) ou 16 jours (étude pilote)
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 10 femelles (étude principale) ou 5 femelles (étude pilote)
 - ✓ **Lot témoin** : oui
 - ✓ **Résultats** : Dans l'étude pilote, les concentrations sériques en ornithine carbamyl transférase (OCT) atteignent un maximum au 4^{ème} jour après exposition. Dans l'étude principale, une infiltration graisseuse modérée est observée au niveau du foie un jour après une exposition de 100 ppm pendant 4 heures. Pour les concentrations plus élevées, l'étendue et la gravité de l'infiltration graisseuse sont augmentées. Les auteurs ont donc conclu que la concentration minimale induisant une infiltration graisseuse suite à une exposition de 4 heures est inférieure à 100 ppm.
 - **Culliford et Hewitt, 1957 - Cotation 3** (peu de détails expérimentaux notamment sur le nombre d'animaux et le temps d'observation, aucun contrôle analytique des concentrations)
 - ✓ **Espèce étudiée** : souris CBA et souris de l'hôpital Westminster (hétérozygote)
 - ✓ **Conditions expérimentales** : Les concentrations ont été calculées sur la base des quantités de chloroforme introduites dans la chambre d'exposition, sur l'hypothèse d'une vaporisation complète à 80°C et d'une dispersion uniforme. Aucun contrôle analytique des concentrations n'a été réalisé.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 676 à 1 434 ppm (souris mâles Westminster) ; 246 à 1 024 ppm (souris mâles CBA)
 - ✓ **Temps d'exposition** : 2 heures

- ✓ **Temps d'observation** : non précisé
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : non précisé
 - ✓ **Lot témoin** : non précisé
 - ✓ **Résultats** : Une nécrose tubulaire rénale complète a été observée 24 heures après exposition pour l'ensemble des souris exposées.
- **Fühner, 1923 - Cotation 3** (l'article complet, non disponible, est en allemand)
 - ✓ **Espèce étudiée** : souris (souche non rapportée)
 - ✓ **Conditions expérimentales** : chaque souris est exposée dans une chambre dans laquelle le chloroforme est vaporisé afin d'obtenir la concentration désirée. Les concentrations n'ont pas été contrôlées analytiquement.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 2 458 à 7 782 ppm
 - ✓ **Temps d'exposition** : 13 à 215 minutes
 - ✓ **Temps d'observation** : non précisé
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 30 souris au total (sexe non rapporté)
 - ✓ **Lot témoin** : non
 - ✓ **Résultats** : Cinq souris exposées à des concentrations de 2 458 à 5 120 ppm ont présenté une perte de reflexe après 48 à 215 minutes d'exposition mais aucune mort n'est constatée.
 Une perte de réflexe a été observée après 30 à 90 minutes d'exposition à 4 710 à 5 529 ppm ; cet effet est réversible chez 12 souris sur 18 et 6 sont morts (les morts ont eu lieu après 71 à 175 minutes).
 Chez les 7 souris exposées à des concentrations de 6 758 à 7 782 ppm, une perte de reflexe a également été observée chez 6 souris après 13 à 46 minutes d'exposition et une souris est morte après 35 minutes d'exposition.

6.2.2 CHEZ LE LAPIN

Il n'existe pas de données de toxicité aiguë non létales publiées dans les bases de données bibliographiques et/ou toxicologiques (OMS, IARC, US EPA, etc.).

6.2.3 CHEZ LE CHIEN

- **Von Oettingen et al., 1949 - Cotation 3** (Très peu de détails sur les conditions d'exposition sont disponibles)
 - ✓ **Espèce étudiée** : chien beagles
 - ✓ **Conditions expérimentales** : Les conditions d'exposition ne sont pas précisées.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 15 000 ppm (nominale), 14 376 ppm (analytique)
 - ✓ **Temps d'exposition** : 6 à 285 minutes
 - ✓ **Temps d'observation** : non précisé
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 10 (sexe non précisé)
 - ✓ **Lot témoin** : non précisé

- ✓ **Résultats** : L'exposition continue à des concentrations de 15 000 ppm de chloroforme a entraîné la mort de tous les chiens. Ils ont présenté les effets suivants après 35 minutes d'exposition : hypotension artérielle, bradypnée, hypothermie et dépression des réflexes volontaires et involontaires.

- **Whipple et Sperry, 1909 - Cotation 3** (Aucun détail sur les conditions d'exposition n'est disponible, les concentrations d'exposition ne sont pas rapportées)
 - ✓ **Espèce étudiée** : chien (fox terrier, scotch terrier)
 - ✓ **Conditions expérimentales** : non précisé
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 1 à 3 onces (soit 28 à 85 g)
 - ✓ **Temps d'exposition** : 90 à 150 minutes
 - ✓ **Temps d'observation** : 4 à 6 jours
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 10 à 32 mâles
 - ✓ **Lot témoin** : non précisé
 - ✓ **Résultats** : Cette étude fournit des informations qualitatives sur les signes cliniques observés : vomissements et diarrhée. Les analyses macroscopiques et histopathologiques ont montré des signes d'hépatotoxicité et de toxicité rénale chez les chiens exposés à 1 à 2 onces de chloroforme pendant 1 à 2 heures.

6.2.4 CHEZ LES PRIMATES NON HUMAINS

Il n'existe pas de données de toxicité aiguë non létales publiées dans les bases de données bibliographiques et/ou toxicologiques (OMS, IARC, US EPA, etc.).

7. ANALYSE DES DONNEES DE TOXICITE

7.1 ANALYSE DES DONNEES DE MORTALITE

7.1.1 ANALYSE QUALITATIVE

Seules deux études répondent à des critères de qualité et de pertinence correspondant aux conditions d'exposition accidentelle (conditions expérimentales et protocole, contrôle analytique des concentrations,...), il s'agit de l'étude de Gehring, 1968 qui a été menée chez la souris femelle et l'étude de Kasai et al. (2002) réalisée chez la souris et le rat (de chaque sexe).

Etudes (auteurs)	Espèce animale	Cotation	Justification
Kasai <i>et al.</i> (2002)	Rat F344/DuCrj	2	Etude de bonne qualité, protocole similaire aux lignes directrices OCDE, non BPL, conditions expérimentales détaillées, exposition répétée mais la mortalité a été rapportée dès le 1 ^{er} jour
Gehring, 1968	Souris Swiss-Webster	2	L'étude de mortalité est de bonne qualité ; le protocole est comparable à un protocole standardisé ; toutefois aucune information sur le temps d'observation n'est indiquée dans la publication
Kasai <i>et al.</i> (2002)	Souris Crj:BDF1	2	Etude de bonne qualité, protocole similaire aux lignes directrices OCDE, non BPL, conditions expérimentales détaillées, exposition répétée mais la mortalité a été rapportée dès le 1 ^{er} jour

Dans l'étude de Gehring (1968), les souris ont été exposées à une concentration de 4 500 ppm de chloroforme pendant 5 à 800 minutes. La durée d'observation des souris n'est pas précisée. La CL_{50%} estimée chez la souris par les auteurs pour 560 minutes d'exposition (intervalle de confiance 95% : 540 – 585 minutes) est de 4 500 ppm.

Dans l'étude de Kasai et al. (2002), les souris et les rats devaient être exposés à des concentrations de 500 à 8 000 ppm, 6 heures/jour, 5 jours/semaine, pendant 2 semaines. Des effets létaux ont été observés dès le premier jour d'exposition. Pour une durée d'exposition de 6 heures, les CL_{50%} estimées chez la souris et le rat par les auteurs sont respectivement de 4 722 ppm et 1 753 ppm.

Les données de mortalité de ces deux études sont étudiées lors de l'analyse quantitative ci-dessous.

7.1.2 ANALYSE QUANTITATIVE

Cette analyse quantitative a été effectuée à partir des études retenues en § 6.1.1.

Le modèle statistique employé est le modèle « probit ». L'analyse probit permet de relier la proportion d'effets (ici mortalité) au niveau d'exposition, caractérisé par une concentration et une durée.

La probabilité que la substance induise un effet néfaste (mortalité) peut s'écrire :

$$p = F\left(\frac{\log(C) + m \log(\tau) - \mu}{\sigma}\right)$$

p est donc la probabilité qu'un individu choisi au hasard et exposé à une concentration C de substance pendant un temps τ présente une réponse (mortalité). L'hypothèse de ce modèle est que la tolérance d'un individu à une substance chimique est distribuée selon une loi Normale au sein de la population générale.

F est la fonction de répartition de la loi Normale. Elle s'écrit :

$$F(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^x \exp\left(-\frac{t^2}{2}\right) dt$$

Pour faire fonctionner ce modèle mathématique, il convient de disposer des données suivantes :

- B : le nombre de groupe d'animaux (ou d'individus)
- C_i : la concentration d'exposition des animaux du groupe i
- b_i : le nombre d'animaux (ou d'individus) dans le groupe i et exposés à la concentration C_i
- y_i : le nombre d'animaux (ou d'individus) affectés par le traitement parmi les n_i exposés à la concentration C_i
- τ_i : le temps d'exposition du groupe i .

Gehring (1968) :

Dans le cas des données de Gehring (1968), les données de mortalité sont disponibles pour la même concentration mais plusieurs temps d'exposition. La valeur de « m » (qui correspond à « $1/n$ ») est alors égale à 1. Ainsi, afin de pouvoir modéliser un couple temps/concentration associé à une réponse de 1 % et 5 %, les paramètres « temps » et « concentration » ont été inversés. Du fait, de la valeur de « $m = 1$ », cela n'impacte pas la modélisation. Les résultats de modélisation obtenus correspondent alors à un temps d'exposition associé à une réponse de 1 % ou 5 % pour une concentration d'exposition donnée (4 500 ppm).

L'utilisation du logiciel de statistiques (MCSim®) a permis d'obtenir les paramètres des équations probit.

L'équation probit établie, pour l'étude de Gehring (1968), est la suivante :

$$Y = -28,77 + 4,527 \log(\text{temps})$$

Y est une fonction de l'équation probit.

La concentration est exprimée en ppm et la durée d'exposition en minutes.

Kasai et al. (2002) :

Sachant qu'un seul temps d'exposition est disponible, le logiciel probit permet d'obtenir une estimation de la valeur des CL₅₀, CL₀₅ et CL₀₁ pour ce temps d'exposition. Les valeurs sont rapportées ci-après.

L'utilisation du logiciel de statistiques (MCSim®) a permis d'obtenir les paramètres des équations probit.

Les équations probit établies, pour l'étude de Kasai et al. (2002) chez le rat et la souris, sont les suivantes :

$$Y = -17,98 + 2,408 \log (\text{concentration}) (\text{rat})$$

$$Y = -83,85 + 9,911 \log (\text{concentration}) (\text{souris})$$

Y est une fonction de l'équation probit.

La concentration est exprimée en ppm et la durée d'exposition en minutes.

Ces analyses ont été effectuées à l'aide du modèle Probit BMD couplée avec la loi de Haber en choisissant « n » = 1 pour l'extrapolation aux durées d'exposition plus importantes, et « n » = 3 pour l'extrapolation aux plus courtes durées d'exposition.

Concentrations létales estimées :

Le tableau ci-après rapporte les concentrations létales 1 %, 5 % et 50 % estimées à partir des données de mortalité de l'étude de Gehring (1968) et Kasai (2002) (cf. annexes 2, 3 et 4) :

Durée d'exposition (min)	CL ₀₁			CL ₀₅			CL ₅₀		
	Gehring (souris)	Kasai (souris)	Kasai (rat)	Gehring (souris)	Kasai (souris)	Kasai (rat)	Gehring (souris)	Kasai (souris)	Kasai (rat)
1	31 540	26 560	4 744	33 162	28 450	6 296	37 455	33 590	12 470
10	14 639	12 330	2 202	15 392	13 210	2 922	17 385	15 590	5 787
20	11 619	9 786	1 748	12 217	10 480	2 319	13 798	12 380	4 593
30	10 150	8 549	1 527	10 672	9 158	2 026	12 054	10 810	4 012
60	8 056	6 785	1 212	8 471	7 268	1 608	9 567	8 581	3 185
120	6 394	5 386	962	6 723	5 769	1 276	7 594	6 810	2 528
240	5 075	4 275	763	5 336	4 579	1 013	6 027	5 405	2 006
480	3 228	2 801	500	3 752	3 000	664	4 784	3 542	1 314

Dans le tableau ci-dessus, il apparaît que le rat est l'espèce la plus sensible (concentrations létales 5 à 6 fois plus basses que chez la souris). Toutefois, il est à noter que sur la base des mortalités observées à l'issue du 2^{ème} jour dans l'étude de Kasai (2002), c'est la souris qui est l'espèce la plus sensible.

De la mortalité a été observée au 2^{ème} jour d'exposition de cette étude de toxicité répétée (Kasai et al., 2002), principalement chez les souris. Une éventuelle mortalité retardée après une exposition unique ne peut pas être exclue d'autant plus que des mortalités retardées

ont été observées chez le rat entre le 2^{ème} et 8^{ème} jour (Bonnet *et al.*, 1980) et chez la souris entre le 5^{ème} et 11^{ème} jour (Gradiski *et al.*, 1978) après une exposition unique de 6 heures. Par conséquent, les concentrations létales estimées à partir de l'étude de Kasai *et al.* (2002) pourraient être plus basses si une durée d'observation de 14 jours avait été associée à une exposition unique. Il est également important de noter que les données de mortalité disponibles ne permettent pas d'établir une relation dose réponse complète car la première concentration induisant des effets létaux après une exposition rapporte 85 % de mortalité chez le rat.

La durée d'observation n'est pas précisée pour l'étude de Gehring (1968), il est donc également possible que des mortalités retardées n'aient pas pu être prises en compte.

Sur la base de ces éléments, les données de mortalités chez le rat issues de l'étude de Kasai *et al.* (2002), conduisant aux concentrations létales les plus faibles, sont utilisées pour la détermination des seuils des effets létaux.

7.2 ANALYSE DES EFFETS NON LETAUX

7.2.1 SYNTHÈSE DES EFFETS NON LETAUX CHEZ L'HOMME

Concentration (ppm)	Temps (min)	Effets	Référence
389	30	Aucun symptôme	Lehmann et Flury, 1943
1 030	7	Étourdissements, hypertension intracrânienne et nausées	
	Plusieurs heures	Maux de tête	
400	30	Aucun symptôme	Snyder et Andrews, 1996
1 000	7	Vertiges et troubles gastro-intestinaux	
14 000	ND	Narcose	
920	3	Vertiges et des étourdissements	Lehmann et Hasegawa, 1910
680	30	Odeur modérée à forte	
1 400	30	Étourdissements, des vertiges, de la lassitude, et des maux de tête	
3 000	30	Palpitations cardiaques	
5 100	20	Étourdissements ainsi qu'une intolérance à la lumière	
7 200	15		
8 500 – 13 000	112 ± 60	Altérations transitoires de la fonction hépatique, tachycardies ventriculaires, nausées et de vomissements	Smith <i>et al.</i> , 1973
22 500	30 - 120	Tachypnée, bradycardie, arythmies cardiaques, hypotension et ictère transitoire	Whitaker et Jones, 1965

ND : non déterminée

7.2.2 SYNTHÈSE DES EFFETS NON LÉTAUX CHEZ L'ANIMAL

Concentration (ppm)	Temps (min)	Effets	Espèces	Références [Cotation de Klimisch]
50 - 100	360	Aucune modification de l'activité enzymatique de la GOT et GPT, et des concentrations en GSH	Rat Wistar	Wang <i>et al.</i> , 1997 [Cotation 2]
500		Légère augmentation de l'activité enzymatique de la GOT et GPT		
50 - 100	480	Aucune modification de l'activité enzymatique de la GOT et GPT, et des concentrations hépatiques et sériques de malondialdéhyde	Rat Wistar	Ikatsu et Nakajima, 1992 [Cotation 2]
137	240	Aucune modification de l'activité enzymatique de la GLDH, GOT, GPT et SDH	Rat Sprague-Dawley	Brondeau <i>et al.</i> , 1983 [Cotation 2]
292		Légère augmentation de l'activité enzymatique de la GLDH et SDH		
5 000 – 10 000	120	Diminution des concentrations en glutathion	Rat Sprague-Dawley	Brown <i>et al.</i> , 1974 [Cotation 2]
4 500	35	CE _{50%} pour les effets narcotiques	Souris Swiss-Webster	Gehring, 1968 [Cotation 2]
	15	CE _{10%} pour les effets narcotiques		
	40	CE _{80%} pour les effets narcotiques		
	13,5	CE _{50%} pour une augmentation de l'activité des transaminases hépatiques		
	6	CE _{20%} pour une augmentation de l'activité des transaminases hépatiques		
	20	CE _{90%} pour une augmentation de l'activité des transaminases hépatiques		
100	240	Infiltration graisseuse hépatique modérée	Souris albinos	Kylin <i>et al.</i> , 1963 [Cotation 2]

8. REVUE DES RESULTATS

8.1 EXTRAPOLATION DES DONNEES EXPERIMENTALES DE L'ANIMAL A L'HOMME

Le système nerveux central, le foie, les reins et le cœur sont considérés comme étant les organes cibles du chloroforme. Le mécanisme d'action du chloroforme est essentiellement systémique.

Le chloroforme est principalement métabolisé au niveau du foie via deux voies métaboliques après activation par l'intermédiaire du cytochrome P450 2E1. La voie oxydative produit des métabolites intermédiaires toxiques tels que le phosgène et le métabolite final est le dioxyde de carbone. La voie réductrice intervient dans des conditions d'anoxie et induit la formation du radical libre dichlorométhylcarbène (ATSDR, 1998).

Le métabolisme semble plus lent chez l'homme que chez les rongeurs. Selon le modèle pharmacocinétique physiologique de Delic et al. (2000), la souris et le rat métabolisent le chloroforme de manière bien plus rapide que l'homme. Le pic d'activité métabolique chez l'homme est 78 fois plus bas que chez la souris pour une exposition à 49 mg/m³ (10 ppm) et 21 fois plus bas que chez le rat pour une exposition de 24,5 mg/m³ (5 ppm) (Delic *et al.*, 2000).

Du fait de leur métabolisme plus rapide, les rongeurs sont donc plus susceptibles aux effets toxiques induits par les métabolites rapidement formés. Ainsi, la plus faible sensibilité attendue chez l'homme à la toxicité du chloroforme conduit à ne pas utiliser de facteur inter-espèce pour extrapoler les données expérimentales de la souris ou du rat à l'homme.

8.2 SEUILS D'EFFETS LÉTAUX CHEZ L'HOMME

L'annexe 2 donne les CL₀₁, CL₀₅ et CL₅₀ pour le chloroforme ainsi que leurs intervalles de confiance et pour des durées d'exposition de 1, 10, 20, 30, 60, 120, 240 et 480 minutes. Les valeurs obtenues à partir des données de mortalité de l'étude de Kasai *et al.* (2002) pour les CL₀₁ et CL₀₅ sont les suivantes :

CL ₀₁ (ppm)		CL ₀₅ (ppm)	
Temps (min)		Temps (min)	
1	4 744	1	6 296
10	2 202	10	2 922
20	1 748	20	2 319
30	1 527	30	2 026
60	1 212	60	1 608
120	962	120	1 276
240	763	240	1 013
480	500	480	664

Du fait de leur métabolisme plus rapide, les rats sont plus susceptibles aux effets toxiques induits par les métabolites rapidement formés. Ainsi, la plus faible sensibilité attendue chez l'homme à la toxicité du chloroforme conduit à ne pas utiliser de facteur inter-espèce. Aucun facteur intra-espèce n'est ajouté pour dériver les seuils des effets létaux, comme indiqué dans la méthodologie Acutex. Ce choix est justifié au vu des concentrations non létales chez l'homme (cf. paragraphe 7.2.1). Ces valeurs sont proposées pour la fixation des seuils des effets létaux en cas d'émission accidentelle de chloroforme :

TEMPS (min)	SPEL	
	mg.m ⁻³	ppm
1	23 151	4 744
10	10 746	2 202
20	8 530	1 748
30	7 452	1 527
60	5 915	1 212
120	4 695	962
240	3 723	763
480	2 440	500

TEMPS (min)	SELS	
	mg.m ⁻³	ppm
1	30 724	6 296
10	14 259	2 922
20	11 317	2 319
30	9 887	2 026
60	7 847	1 608
120	6 227	1 276
240	4 943	1 013
480	3 240	664

$$Y = -17,98 + 2,408 \log (C)$$

8.3 SEUILS DES EFFETS IRREVERSIBLES

La détermination des seuils d'effets irréversibles (SEI) n'a pas été possible à la vue des études disponibles. Les effets observés pour les concentrations non létales sont généralement réversibles.

Les valeurs seuils d'effets irréversibles sont essentielles dans le cadre de la maîtrise de l'urbanisation pour l'élaboration des Plans de Prévention des Risques Technologiques ou encore pour le calcul des taux d'atténuation. Ainsi, il est proposé de pallier l'absence de SEI en utilisant la méthode calculatoire de la méthodologie française. Cette méthode permet le calcul des seuils d'effets irréversibles en appliquant un facteur 3 (considérant un effet local) ou 9 (considérant un effet systémique) au tiers de la CL1%. Bien que le chloroforme induit des effets systémiques, les rongeurs étant plus sensibles que l'homme (cf. paragraphe 8.1), seul un facteur de 3 (intra-espèce) est appliqué au tiers de la CL1%. Les seuils des effets irréversibles peuvent être déterminés selon la formule suivante : SEI = 1/3 CL01 x 1/3.

Ainsi, les seuils d'effets irréversibles calculatoires (SEI_c) suivants sont obtenus pour le chloroforme :

TEMPS (min)	SEI _c	
	mg.m ⁻³	ppm
1	2 572	527
10	1 194	245
20	948	194
30	828	170
60	657	135
120	522	107
240	414	85
480	271	56

8.4 SEUILS DES EFFETS REVERSIBLES

Dans l'étude de Gehring (1968), l'exposition de souris (10 animaux par lot) à la concentration de 4 500 ppm pendant 5 à 800 minutes a permis d'établir une relation dose-effet pour les effets narcotiques. La concentration induisant 10% d'effets (CE10%) de 4 500 ppm pour 15 minutes d'exposition a été déterminée par les auteurs.

Dans l'étude de Lehmann et Hasegawa (1910) chez l'homme, des étourdissements, des vertiges, de la lassitude, et des maux de tête ont été observés chez trois individus exposés au chloroforme à 1 400 ppm pendant 30 minutes.

Les méthodes d'exposition et de mesures étant indisponibles pour l'étude de Lehmann et Hasegawa (1910), des seuils des effets réversibles ont été calculées à partir du point de départ de CE10% de 4 500 ppm pour 15 minutes d'exposition chez les souris en appliquant la loi de Haber pour l'extrapolation à d'autres durées d'exposition et en appliquant un facteur intra-espèce de 3 et inter-espèce de 3 (en raison du mode d'action des effets narcotiques). Les valeurs obtenues n'étant pas compatibles avec les valeurs seuils des effets irréversibles déterminées à partir de la méthode calculatoire de la méthodologie française, il n'est pas possible de dériver des seuils des effets réversibles sur la base des données disponibles.

8.5 SEUIL DE PERCEPTION

Le chloroforme est un liquide incolore possédant une odeur éthérée caractéristique. Le seuil olfactif est de 85 ppm (Ruth, 1986).

9. CONCLUSION

◆ Seuils d'effets létaux

TEMPS (min)	SELS	
	mg.m ⁻³	ppm
1*	30 724	4 744
10	14 259	2 202
20	11 317	1 748
30	9 887	1 527
60	7 847	1 212
120	6 227	962
240	4 943	763
480	3 240	500

TEMPS (min)	SPEL	
	mg.m ⁻³	ppm
1*	23 151	6 296
10	10 746	2 922
20	8 530	2 319
30	7 452	2 026
60	5 915	1 608
120	4 695	1 276
240	3 723	1 013
480	2 440	664

* D'un point de vue toxicologique, il n'est pas pertinent de déterminer de valeur seuil pour un effet donné (léta, irréversible ou réversible) pour des durées d'exposition inférieures à 10 minutes. Ceci s'explique en raison de la physiologie respiratoire et les apnées réflexes mis en jeu en cas d'exposition à des substances irritantes par inhalation.

Ainsi, la valeur du seuil de toxicité aiguë pour une exposition d'une minute est purement une donnée mathématique calculée sans réelle valeur toxicologique.

◆ **Seuils d'effets irréversibles**

TEMPS (min)	SEI _c	
	mg.m ⁻³	ppm
1*	2 572	527
10	1 194	245
20	948	194
30	828	170
60	657	135
120	522	107
240	414	85
480	271	56

SEI_c : Seuils des effets irréversibles calculatoires

◆ **Seuils d'effets réversibles**

Les seuils d'effet réversibles n'ont pas pu être calculés.

◆ **Seuil de perception**

Le seuil olfactif proposé est de 85 ppm (odeur étherée caractéristique).

* *D'un point de vue toxicologique, il n'est pas pertinent de déterminer de valeur seuil pour un effet donné (léta, irréversible ou réversible) pour des durées d'exposition inférieures à 10 minutes. Ceci s'explique en raison de la physiologie respiratoire et les apnées réflexes mis en jeu en cas d'exposition à des substances irritantes par inhalation.*

Ainsi, la valeur du seuil de toxicité aiguë pour une exposition d'une minute est purement une donnée mathématique calculée sans réelle valeur toxicologique.

10. REFERENCES

ATSDR (1998) - Toxicological Profile for Chloroform. *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*.

Bonnet P., Francin J.P., Gradiski D., Raoul G. and Zissu D. (1980) - Détermination de la concentration léthale⁵⁰ des principaux hydrocarbures aliphatiques chlorés chez le rat. *Arch Mal Prof*, **41**, 6-7, 317-321.

Brondeau M.T., Bonnet P., Guenier J.P. and De Ceaurriz J. (1983) - Short-term inhalation test for evaluating industrial hepatotoxicants in rats. *Toxicol Lett*, **19**, 1-2, 139-146.

Brown B.R., Jr., Sipes I.G. and Sagalyn A.M. (1974) - Mechanisms of acute hepatic toxicity: chloroform, halothane, and glutathione. *Anesthesiology*, **41**, 6, 554-561.

Budavari S., O'Neil M.J., Smith A., Heckelman P.E. and Kinneary J.F. (1996) - The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals, 14th Edition, Chloroform.

Culliford D. and Hewitt H.B. (1957) - The influence of sex hormone status on the susceptibility of mice to chloroform-induced necrosis of the renal tubules. *J Endocrinol*, **14**, 4, 381-393.

Delic J.I., Lilly P.D., MacDonald A.J. and Loizou G.D. (2000) - The utility of PBPK in the safety assessment of chloroform and carbon tetrachloride. *Regul Toxicol Pharmacol*, **32**, 2, 144-155.

Deringer M.K., Dunn T.B. and Heston W.E. (1953) - Results of exposure of strain C3H mice to chloroform. *Proc Soc Exp Biol Med*, **83**, 3, 474-479.

Fühner H. (1923) - Relative potencies of chloroform and carbon tetrachloride [in German]. *Arch. Exp. Pathol.*, **97**, 86-112.

Gehring P.J. (1968) - Hepatotoxic potency of various chlorinated hydrocarbon vapours relative to their narcotic and lethal potencies in mice. *Toxicol Appl Pharmacol*, **13**, 3, 287-298.

Gradiski D., Bonnet P., Raoul G. and Magadur J.L. (1978) - Toxicité aiguë comparée par inhalation des principaux solvants aliphatiques chlorés. *Arch Mal Prof*, **39**, 4-5, 249-257.

Haskell Laboratory (1964) - Inhalation Toxicity Study on Freon-113, Freon TC, and Chloroform. Haskell Laboratory Report No. 135-64. EPA Document No. 86-870000965. Microfiche No. OTS0514867.

Hutchens K.S. and Kung M. (1985) - "Experimentation" with chloroform. *Am J Med*, **78**, 4, 715-718.

Ikatsu H. and Nakajima T. (1992) - Hepatotoxic interaction between carbon tetrachloride and chloroform in ethanol treated rats. *Arch Toxicol*, **66**, 8, 580-586.

Kylin B., Reichard H., Suemegi I. and Yllner S. (1963) - Hepatotoxicity of Inhaled Trichloroethylene, Tetrachloroethylene and Chloroform. Single Exposure. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*, **20**, 16-26.

Lehmann K.B. and Hasegawa D. (1910) - Studies on the absorption of chlorinated hydrocarbons in animals and humans. *Arch. Hyg.*, **72**, 327-342.

Lehmann K.B. and Flury F. (1943) - Chloroform (trichloromethanes). Pp. 138-145 in *Toxicology and Hygiene of Industrial Solvents*. Baltimore, MD: Williams and Wilkins.

Lundberg I., Ekdahl M., Kronevi T., Lidums V. and Lundberg S. (1986) - Relative hepatotoxicity of some industrial solvents after intraperitoneal injection or inhalation exposure in rats. *Environ Res*, **40**, 2, 411-420.

McCulloch (2003) - Chloroform in the environment: occurrence, sources, sinks and effects. *Chemosphere*, 50 :1291-1308.

NRC (2012) - Acute Exposure Guideline Levels for Selected Airborne Chemicals: Volume 12, Chloroform. *Committee on Acute Exposure Guideline Levels, National Research Council*

Ruth J.H. (1986) - Odor thresholds and irritation levels of several chemical substances: a review. *Am Ind Hyg Assoc J*, **47**, 3, A142-151.

Smith A.A., Volpitto P.P., Gramling Z.W., DeVore M.B. and Glassman A.B. (1973) - Chloroform, halothane, and regional anesthesia: a comparative study. *Anesth Analg*, **52**, 1, 1-11.

Smyth H.F., Jr., Carpenter C.P., Weil C.S., Pozzani U.C. and Striegel J.A. (1962) - Range-finding toxicity data: List VI. *Am Ind Hyg Assoc J*, **23**, 95-107.

Snyder R. and Andrews L.S. (1996) - Toxic effects of solvents and vapors. Pp. 737-772 in Casarett and Doull's *Toxicology: The Basic Science of Poisons*, 5th Ed., C.D. Klaassen, M.O. Amdur, and J. Doull, eds. New York: McGraw Hill.

Von Oettingen W.F., Powell C.C., Sharpless N.E., Alford W.C. and Pecora L.J. (1949) - Relation Between the Toxic Action of Chlorinated Methanes and Their Chemical

and Physicochemical Properties. . *National Institutes of Health Bulletin No 191*.

Wang P.Y., Kaneko T., Tsukada H., Nakano M. and Sato A. (1997) - Dose- and route-dependent alterations in metabolism and toxicity of chemical compounds in ethanol-treated rats: difference between highly (chloroform) and poorly (carbon tetrachloride) metabolized hepatotoxic compounds. *Toxicol Appl Pharmacol*, **142**, 1, 13-21.

Whipple G.H. and Sperry J.A. (1909) - Chloroform poisoning - liver necrosis and repair (as cited in NRC 1984).

. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, **20**, 278-289.

Whitaker A.M. and Jones C.S. (1965) - Report of 1500 Chloroform Anesthetics Administered with a Precision Vaporizer. *Anesth Analg*, **44**, 60-65.

11. LISTE DES ANNEXES

Repère	Désignation	Nombre de pages
Annexe 1	Critères pour la cotation de Klimisch (1997)	1
Annexe 2	Sortie du logiciel chez le rat (Kasai <i>et al.</i> , 2002)	5
Annexe 3	Sortie du logiciel chez la souris (Kasai <i>et al.</i> , 2002)	4
Annexe 4	Sortie du logiciel chez la souris (Gehring, 1968)	3

Annexe 1
Critères pour la cotation de Klimisch (1997)

Cotation	Catégorie de validité
1	Valide sans restriction
- 1a	- Etude BPL respectant les tests standardisés (OCDE, EC, EPA, FDA, etc.)
- 1b	- Comparable à des tests standardisés ("guidelines")
- 1c	- Protocole en accord avec méthode standardisée nationale (AFNOR, DIN, etc.)
- 1d	- Protocole en accord avec d'autres méthodes standardisées scientifiquement acceptées, et suffisamment détaillé.
2	Valide avec restriction
- 2a	- Etude standardisée sans documentation détaillée
- 2b	- Etude standardisée avec restrictions acceptables
- 2c	- Comparable à une étude standardisée avec restrictions acceptables
- 2d	- Protocole en accord avec les méthodes standardisées nationales, avec restrictions acceptables
- 2e	- Etude bien documentée et en accord avec les principes scientifiques, acceptable pour l'évaluation
- 2f	- Méthode de calcul acceptée
- 2g	- Données provenant d'ouvrages de références et de collecte de données
3	Non valide
- 3a	- Document insuffisant pour l'évaluation
- 3b	- Déficiences méthodologiques significatives
- 3c	- Protocole inconcevable
4	Non évaluable
- 4a	- Résumé
- 4b	- Littérature secondaire
- 4c	- Référence originale non disponible
- 4d	- Référence originale dans un autre langage que le langage international
- 4e	- Documentation insuffisante pour l'évaluation

Annexe 2

Sortie du logiciel Probit chez le rat (Kasai *et al.*, 2002)

Experimental toxicology - probit model: $\alpha + \beta \times \log(C) \sim N(0;1)$

Chemical : Chloroforme

Species : rat

Study reference : Kasai et al 2002

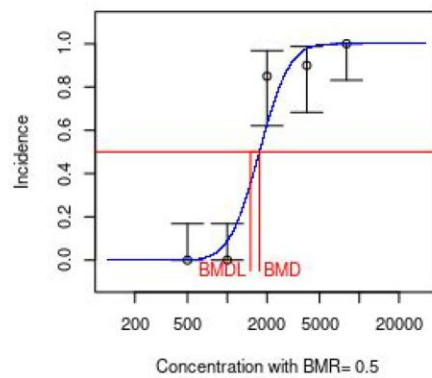
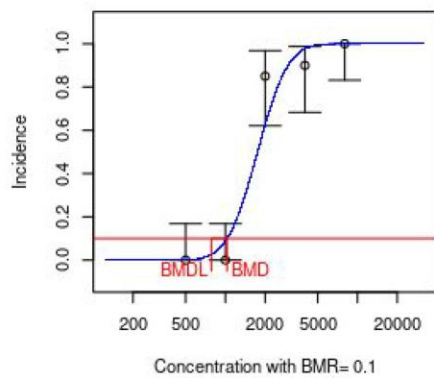
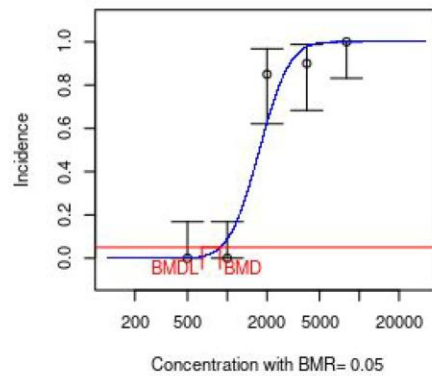
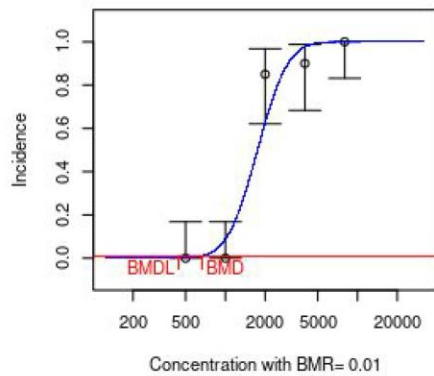
Data

#	Concentration	Subjects	Incidence
1	0	20	0
2	500	20	0
3	1000	20	0
4	2000	20	17
5	4000	20	18
6	8000	20	20

Convergence of Parameter Estimation= converged

Parameter Estimates:

Parameter	Estimate	Lower Conf. Limit	Upper Conf. Limit
slope (β)	2.408	1.753	3.241
intercept (α)	-17.98	-24.3	-13.05



Model fit :

Maximum Log Likelihood = -20.75

#	Scaled residuals
1	NA
2	-0.159
3	-1.39
4	2.08
5	-2.26
6	0.0507

Chi-square (χ^2) = 11.4

Goodness of Fit = 0.02237

Benchmark Dose Computation (Confidence Level = 0.95):

Benchmark Response	BMD	BMDL
0.01	666.9	441.2
0.05	885	643.6
0.1	1029	784.5
0.5	1753	1500

Benchmark Dose Extrapolation (Confidence Level = 0.95):

These results were obtained considering C_{nT} constant, with $n=3$ for durations shorter than in the data and $n=1$ for durations longer than in the data.

Benchmark Response	Duration	BMD	BMDL
0.01	1	4744	3139
0.01	10	2202	1457
0.01	20	1748	1156
0.01	30	1527	1010
0.01	60	1212	801.8
0.01	120	961.8	636.4
0.01	240	763.4	505.1
0.01	480	500.1	330.9
0.05	1	6296	4579
0.05	10	2922	2125
0.05	20	2319	1687
0.05	30	2026	1474
0.05	60	1608	1170
0.05	120	1276	928.3
0.05	240	1013	736.8
0.05	480	663.8	482.7
0.1	1	7322	5581

Benchmark Response	Duration	BMD	BMDL
0.1	10	3398	2590
0.1	20	2697	2056
0.1	30	2356	1796
0.1	60	1870	1425
0.1	120	1484	1131
0.1	240	1178	898
0.1	480	771.9	588.4
0.5	1	12470	10670
0.5	10	5787	4952
0.5	20	4593	3931
0.5	30	4012	3434
0.5	60	3185	2725
0.5	120	2528	2163
0.5	240	2006	1717
0.5	480	1314	1125

Annexe 3

Sortie du logiciel Probit chez la souris (Kasai *et al.*, 2002)

Experimental toxicology - probit model: $\alpha + \beta \times \log(C) \sim N(0;1)$

Chemical : Chloroforme

Species : souris

Study reference : Kasai et al 2002

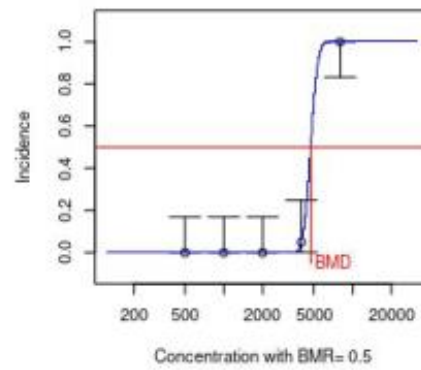
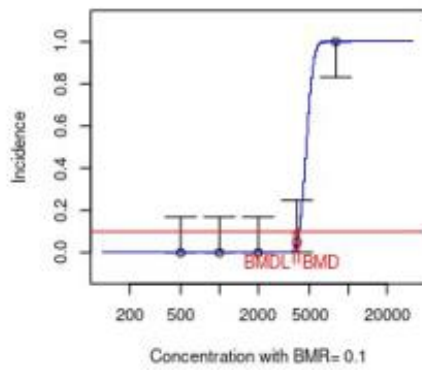
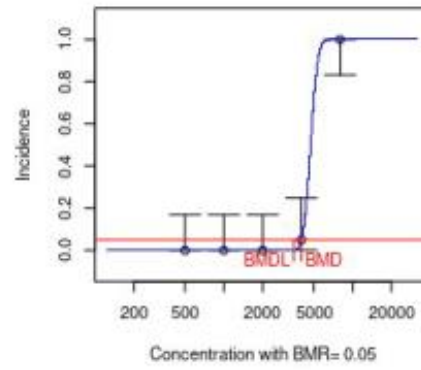
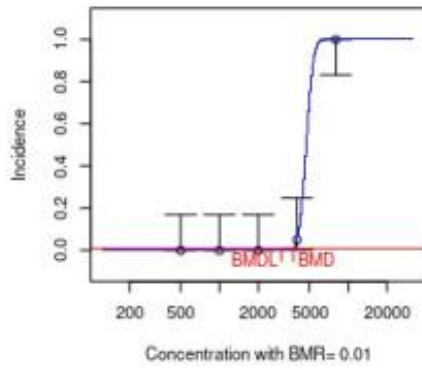
Data

#	Concentration	Subjects	Incidence
1	0	20	0
2	500	20	0
3	1000	20	0
4	2000	20	0
5	4000	20	1
6	8000	20	20

Convergence of Parameter Estimation=
converged

Parameter Estimates:

Parameter	Estimate	Lower Conf. Limit	Upper Conf. Limit
slope (β)	9.911	4.225	NA
intercept (α)	-83.85	-68770000	-36.3



Model fit :

Maximum Log Likelihood = -3.97

#	Scaled residuals
1	NA
2	-1.02e-54
3	-1.45e-26
4	-1.29e-08
5	-0.00035
6	0.00132

Chi-square (χ^2) = 1.863e-06

Goodness of Fit = 1

Benchmark Dose Computation (Confidence Level = 0.95):

Benchmark Response	BMD	BMDL
0.01	3734	3013
0.05	4000	3497
0.1	4149	3768
0.5	4722	NA

Benchmark Dose Extrapolation (Confidence Level = 0.95):

These results were obtained considering C_nT constant, with $n=3$ for durations shorter than in the data and $n=1$ for durations longer than in the data.

Benchmark Response	Duration	BMD	BMDL
0.01	1	26560	21430
0.01	10	12330	9947
0.01	20	9786	7895
0.01	30	8549	6897
0.01	60	6785	5474
0.01	120	5386	4345
0.01	240	4275	3448
0.01	480	2801	2259
0.05	1	28450	24870
0.05	10	13210	11550
0.05	20	10480	9164
0.05	30	9158	8005
0.05	60	7268	6354
0.05	120	5769	5043
0.05	240	4579	4003
0.05	480	3000	2622
0.1	1	29520	26800

Benchmark Response	Duration	BMD	BMDL
0.1	10	13700	12440
0.1	20	10870	9874
0.1	30	9499	8626
0.1	60	7540	6847
0.1	120	5984	5434
0.1	240	4750	4313
0.1	480	3112	2826
0.5	1	33590	NA
0.5	10	15590	NA
0.5	20	12380	NA
0.5	30	10810	NA
0.5	60	8581	NA
0.5	120	6810	NA
0.5	240	5405	NA
0.5	480	3542	NA

Annexe 4

Sortie du logiciel Probit chez la souris (Gehring, 1968)

"VERSION 1.0"

probit model: $\alpha + \beta \times \log(T) \sim N(0;1)$

Chemical: Chloroforme

Species: Souris Swiss-Webster

Study: Gehring, 1968

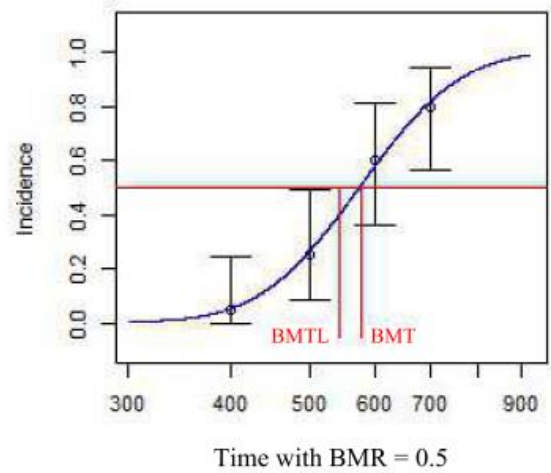
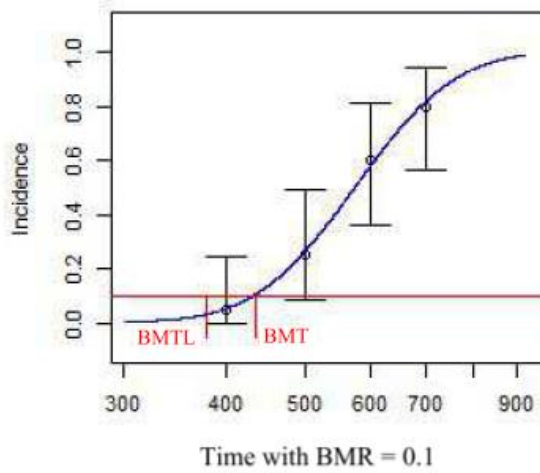
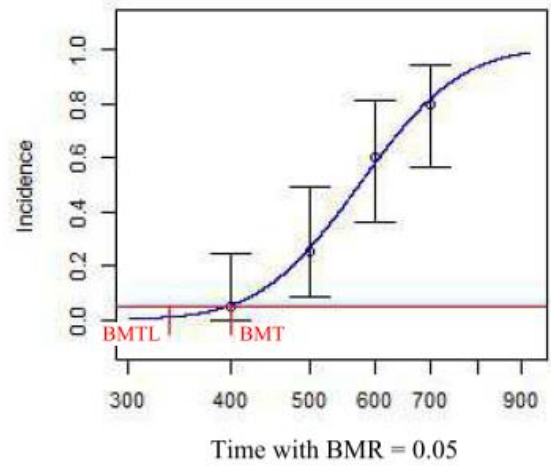
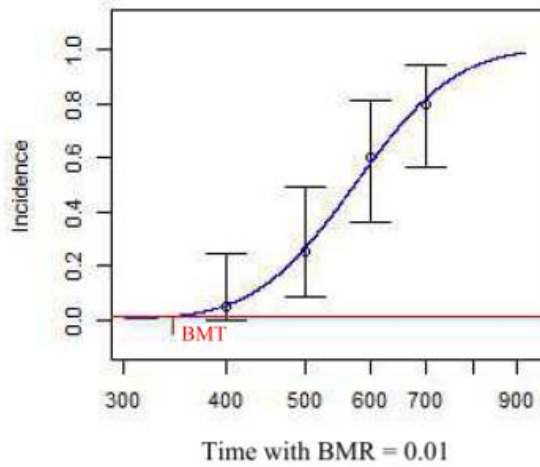
Data:

Time	Subjects	Incidence
400	20	1
500	20	5
600	20	12
700	20	16

Convergence of Parameter Estimation= converged

Parameter Estimates:

Parameter	Estimate	Lower Conf. Limit	Upper Conf. Limit
slope (β)	4.527	3.085	6.124
intercept (α)	-28.77	-38.9	-19.64



Model fit:

Maximum Log Likelihood=-38.73

Scaled residuals:

0.0055
-0.122
0.23
-0.139

Chi-square=0.08708

Goodness of Fit=0.9574

Benchmark Time Computation (Confidence Level = 0.95):

Benchmark Response	BMT	BMTL	Difference between expected and observed loglikelihood at confidence interval lower limit
0.01	344.3	271.5	-2.263e-08
0.05	400.2	337.2	-7.518e-08
0.1	433.7	377.8	-3.243e-08
0.5	575.6	542.2	1.39e-08