



Seuils de Toxicité Aiguë

Dioxyde d'Azote (NO₂)

Rapport Final

Ministère de l'Écologie et du Développement durable
Ministère de la Santé, de la Famille et des
Personnes Handicapées

Sylvie TISSOT - Annick PICHARD

*Unité d'Expertise des Substances Chimiques (ETSC)
Direction des Risques Chroniques*

MAI 2004

Seuils de Toxicité Aiguë

Dioxyde d'Azote (NO₂)

Rapport Final

Ministère de l'Ecologie et du Développement durable
Ministère de la Santé, de la Famille et des Personnes
Handicapées

MAI 2004

PERSONNES AYANT PARTICIPE A L'ETUDE

Sylvie TISSOT - Annick PICHARD - Chantal GILLET

	Rédaction	Vérification		Approbation
NOM	Sylvie TISSOT	A. PICHARD	F. BOIS	M. NOMINE
Qualité	Toxicologue	Responsable Unité ETSC	Responsable Unité TOXI	Conseiller scientifique
Visa				

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 du 20 novembre 2003.

Dans ce contexte, le ministère de l'Ecologie et du Développement Durable (DPPR) et le Ministère de la Santé, de la Famille et des Personnes Handicapées (DGS) ont demandé à l'INERIS de leur proposer des “**seuils des effets létaux**” (S.E.L.), des “**seuils des effets irréversibles**” (S.E.I.), des “**seuils des effets réversibles**” et un seuil de perception (S.P) pour le dioxyde d'azote.

Ceci est l'objet du présent rapport élaboré par un groupe d'experts toxicologues qui a défini les seuils suivants :

◆ Seuils d'effets létaux

TEMPS (min)	CONCENTRATION	
	mg/m ³	ppm
1	320	170
10	188	100
20	169	90
30	150	80
60	132	70

◆ Seuils d'effets irréversibles

TEMPS (min)	CONCENTRATION	
	mg/m ³	ppm
1	197	105
10	113	60
20	103	55
30	94	50
60	75	40

◆ **Seuils d'effets réversibles**

TEMPS (min)	CONCENTRATION	
	mg/m ³	ppm
1	10	5
10	10	5
20	10	5
30	10	5
60	10	5

◆ **Seuil de perception**

Seuil olfactif : 0,2 ppm

Graphe récapitulatif des seuils de toxicité aiguë

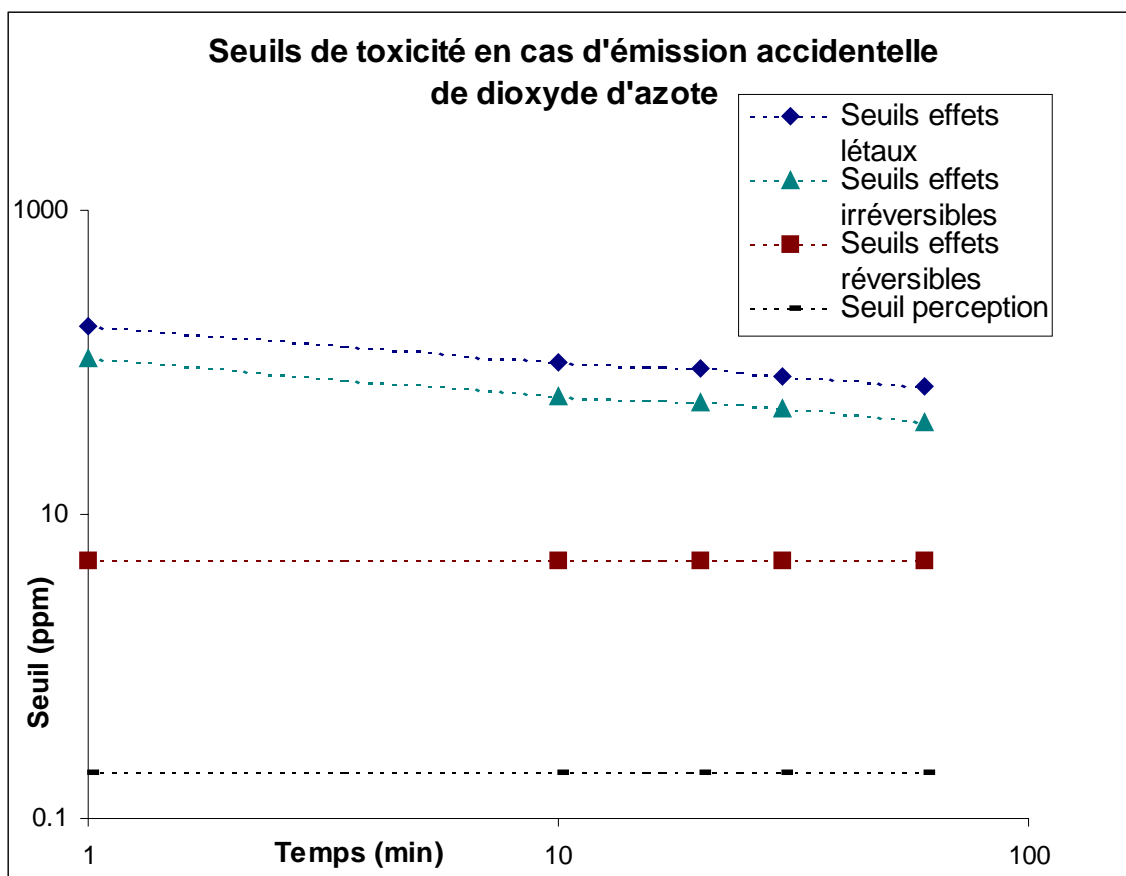


TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION	5
2. VALEURS OFFICIELLES EXISTANTES	6
3. DONNÉES DE TOXICITÉ CHEZ L'HOMME	8
3.1 Données épidémiocliniques	8
3.2 Données expérimentales chez des volontaires sains	11
4. DONNÉES DE TOXICITE CHEZ L'ANIMAL	15
4.1 Etude des effets létaux	15
4.1.1 Chez les Rongeurs : Rat, Souris et Cobayes	15
4.1.2 Chez le Lapin	17
4.1.3 Chez le Chien	18
4.1.4 Chez les Primates non humains	18
4.2 Etude des effets non létaux	18
4.2.1 Chez les Rongeurs : Rat et Souris	18
4.2.2 Chez le Lapin	23
4.2.3 Chez le chien	23
4.2.4 Chez les Primates non humains	24
5. ANALYSE DES DONNÉES DE TOXICITÉ	25
5.1 Analyse des données de mortalité	25
5.1.1 Etudes qualitatives	25
5.1.2 Analyse quantitative	25
5.2 Analyse des effets non létaux	27
5.2.1 Synthèse des effets non létaux chez l'homme	27
Synthèse des effets non létaux chez l'animal	28
6. REVUE DES RESULTATS	29
6.1 Extrapolation des données expérimentales de l'animal à l'homme	29
6.2 Seuils d'effets létaux chez l'homme	29
6.3 Seuils des effets irréversibles	30
6.4 Seuils des effets réversibles	31
6.5 Seuil de perception	32
7. CONCLUSION	33
8. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	34
9. ANNEXES	38

1. 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 et d'experts toxicologues du Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable et du Ministère de la Santé, de la Famille et des Personnes Handicapées, de l'INERIS, de l'INRS, de l'IRSN, de Centres Hospitalo-Universitaires et de l'Industrie et sont reprises dans la méthodologie révisée du 20 novembre 2003.

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**" (S.E.L.), les "**seuils des effets irréversibles**" (S.E.I.) et les "**seuils des effets réversibles**" (S.E.R.) et le "**seuil de perception**" (S.P.).

le "**seuil des effets létaux**" (S.E.L) correspond à la concentration, pour une durée d'exposition donnée, au dessus de laquelle on peut observer une mortalité au sein de la population exposée.

le "**seuil des effets irréversibles**" (S.E.I) correspond à la concentration, pour une durée d'exposition donnée, au dessus de laquelle des effets irréversibles peuvent apparaître au sein de la population exposée.

le "**seuil des effets réversibles**" (S.E.R) correspond à la concentration, pour une durée d'exposition donnée, au dessus de laquelle la population exposée peut présenter des effets réversibles.

le "**seuil de perception**" (S.P) correspond à la concentration 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).*

Le ministère de l'Environnement et du Développement durable et le ministère de la Santé, de la Famille et des Personnes Handicapées ont demandé à l'INERIS de leur proposer ces seuils de toxicité aiguë pour le dioxyde d'azote.

Les seuils sont élaborés par un groupe d'experts toxicologues 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 et consultable sur le site Internet de l'INERIS (www.ineris.fr).

Ce présent rapport a été élaboré à l'issue de plusieurs réunions du groupe d'experts toxicologues regroupant les personnes suivantes :

Mmes Clemente (IRSN) - Dechariaux (MSFPH/DGS) - Doornaert (INERIS) - Pichard (INERIS) - Tissot (INERIS) - Verrhiest (MEDD/DPPR).

MM. Baert (CAP Rennes) - Breton (CEB) - De Rooij (SOLVAY) - Lafon (INRS) - Lombard (ATOFINA).

Selon les sources, les concentrations en dioxyde d'azote sont exprimées dans ce rapport en ppm ou en mg/m³, et les facteurs de conversion sont les suivants :

- 1 mg/m³ = 0,53 ppm
- 1 ppm = 1,88 mg/m³

2. VALEURS OFFICIELLES EXISTANTES

En **France**, l'émission accidentelle de dioxyde d'azote a déjà fait l'objet d'un examen (Document « *Fiches techniques/Courbes de toxicité aiguë par inhalation* » diffusé par le Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement en 1998). Des seuils d'effets létaux et irréversibles font actuellement référence. Ils sont répertoriés dans le tableau ci-après :

Temps (min)	10	20	30	60	120
Effets létaux S.E.L. (ppm)	Courbes Rhône Poulenc / SEI (1990)				
	120	100	95	80	70
Effets irréversibles S.E.S. (ppm)	Courbes Rhône Poulenc / SEI (1990)				
	50	50	50	25	13
Odeur	Fiche INRS				
	0,2 ppm				

Par ailleurs, aux **Etats-Unis**, l'**AIHA** (American Industrial Hygienist Association) publie des valeurs **E.R.P.G** (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 : E.R.P.G-1, E.R.P.G-2, E.R.P.G-3. Les définitions (en anglais) sont les suivantes :

- The **E.R.P.G-1** is the maximum airborne concentration below which it is believed nearly all individuals could be exposed for up to 1 hour without experiencing other than mild transient adverse health effects or perceiving a clearly defined objectionable odor.
- The **E.R.P.G-2** is the maximum airborne concentration below which it is believed nearly all individuals could be exposed for up to 1 hour without experiencing or developing irreversible or other serious health effects or symptoms that could impair their abilities to take protective actions.
- The **E.R.P.G-3** is the maximum airborne concentration below which it is believed nearly all individuals could be exposed for up to 1 hour without experiencing or developing life-threatening health effects.

Pour le dioxyde d'azote, les valeurs d'E.R.P.G (2003) sont :

- **E.R.P.G-1** : 1 ppm (1,9 mg/m³)
- **E.R.P.G-2** : 15 ppm (28,2 mg/m³)
- **E.R.P.G-3** : 30 ppm (56,4mg/m³)

De plus, le comité **A.E.G.Ls** (Acute Exposure Guideline Levels) a publié au Federal Register de septembre 1998 les valeurs AEGLs du dioxyde d'azote. Ces valeurs ont le statut de "proposed" AEGLs. Les définitions de ces valeurs A.E.G.Ls (en anglais) sont:

- **A.E.G.L-1** : airborne concentration of a substance at or above which it is predicted that the general population, including "susceptible" but excluding "hypersusceptible" individuals, could experience notable discomfort. Airborne concentrations below A.E.G.L-1 represent exposure levels that could produce mild odor, taste, or other sensory irritation.
- **A.E.G.L-2** : airborne concentration of a substance at or above which it is predicted that the general population, including "susceptible" but excluding "hypersusceptible" individuals, could experience irreversible or other serious, long-lasting effects or impaired ability to escape. Airborne concentrations below A.E.G.L-2 but at or above A.E.G.L-1 represent exposure levels that may cause notable discomfort.
- **A.E.G.L-3** : airborne concentration of a substance at or above which it is predicted that the general population, including "susceptible" but excluding "hypersusceptible" individuals, could experience life-threatening effects or death. Airborne concentrations below A.E.G.L-3 but at or above A.E.G.L-2 represent exposure levels that may cause irreversible or other serious, long-lasting effects or impaired ability to escape.

Les valeurs A.E.G.Ls du dioxyde d'azote sont donc les suivantes :

Durée (min)	10	30	60
A.E.G.L-1 (ppm)	0,50	0,50	0,50
A.E.G.L-2 (ppm)	20	15	12
A.E.G.L-3 (ppm)	34	25	20

Rappel : 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 dioxyde d'azote, cette valeur est de 50 ppm (valeur révisée : 20 ppm en 1996).

3. DONNEES DE TOXICITE CHEZ L'HOMME

Le dioxyde d'azote est à température ordinaire un liquide très volatil jaune brun ou un gaz rouge brun, plus lourd que l'air, faiblement soluble dans l'eau. Le dioxyde d'azote est également utilisé comme agent de nitration, agent d'oxydation et comburant, notamment dans les combustibles pour fusées. Dans les conditions normales (température ordinaire), il s'agit d'un composé stable. Il réagit lentement avec l'eau pour donner de l'acide nitreux et de l'acide nitrique. C'est un oxydant puissant et un comburant qui réagit avec de nombreux produits et parfois de manière explosive. Dans l'atmosphère les principales sources de dioxyde d'azote sont la combustion des carburants organiques et les émissions des véhicules (INRS, 1996).

3.1 DONNEES EPIDEMIOCLINIQUES

Le dioxyde d'azote comme les autres oxydes d'azote est un irritant des muqueuses respiratoires et en particulier du parenchyme pulmonaire. Ce gaz se caractérise par une odeur irritante et est perceptible dès 0,2 ppm (INRS, 1996). La faible solubilité dans l'eau du dioxyde d'azote lui permet de pénétrer profondément dans le tractus respiratoire. Toutefois, la cinétique d'absorption de ce toxique apparaît être déterminée beaucoup plus par sa réactivité chimique que par sa solubilité. De plus, l'absorption du dioxyde d'azote au niveau pulmonaire est saturable et très dépendante de la température suggérant que les réactions avec les constituants de la surface pulmonaire représentent un important, voire unique mécanisme de l'absorption. A des concentrations inférieures à 10 ppm, cette absorption suit une cinétique de première ordre. Des concentrations de 2 à 17 ppm s'avèrent être sub-létales pour les cellules alvéolaires de type I et les cellules épithéliales ciliées. Outre ces effets respiratoires, le dioxyde d'azote présente des effets systémiques. En effet, après absorption, il est transformé en acide nitrique puis en ions nitrites dans la circulation sanguine et induit la formation de méthémoglobine selon une relation linéaire dose-dépendante (Troncy *et al.*, 1997).

L'intoxication aiguë évolue généralement en trois phases (Lauwerys, 2000):

- Une irritation plus ou moins intense des muqueuses oculaires et respiratoires avec larmoiement, toux, dyspnée et nausées possibles. Cette phase d'irritation régresse rapidement dès la fin de l'exposition et peut passer inaperçue;
- Une période de rémission plus ou moins asymptomatique de 6 à 24 heures;
- Le développement d'un œdème pulmonaire associé à une détresse respiratoire (tachypnée, cyanose et bronchospasme) et de la fièvre et pouvant être déclenché par un effort très léger tel que la marche.

S'il n'est pas fatal, l'épisode aigu peut évoluer vers la guérison totale ou être suivi par l'apparition d'une bronchiolite oblitérante 10 à 30 jours après l'exposition, entraînant des séquelles fonctionnelles importantes (liées à la fibrose ou l'emphysème).

◆ Grayson (1956)

Deux individus ont été exposés à du dioxyde d'azote (concentration non déterminée) au niveau d'un silo pendant 2-3 minutes pour l'un et 5-8 minutes pour l'autre. Pour l'exposition la plus longue, malgré les soins hospitaliers, le patient est décédé d'un œdème pulmonaire aigu. Dans l'autre cas, l'exposition a été seulement de 2 à 3 minutes. 14 heures après l'exposition, il est hospitalisé pour des troubles croissants tels que des vomissements, de la faiblesse, une hyperpnée, des râles respiratoires. A la radiographie, des infiltrats pulmonaires confluents sont observés. L'individu présente également une tachycardie sinusale. Un an après l'accident, cet agriculteur ne présente aucune séquelle de l'exposition.

Cet article relate également d'autres cas accidentels d'exposition au dioxyde d'azote. La synthèse des différentes observations réalisées a permis de proposer des relations entre les niveaux d'exposition et les effets sur la santé. Pour une exposition à 500 ppm, la mort par œdème pulmonaire aigu intervient dans les 48 heures. Pour une exposition à 300-400 ppm, un œdème pulmonaire associé à une broncho-pneumonie provoque une mortalité retardée entre 2 et 10 jours. Pour 150 à 200 ppm, le développement d'une bronchiolite oblitérante est fatale en 3 à 5 semaines. Pour des expositions de 25 à 100 ppm, des bronchites ou des broncho-pneumonies sont observées pendant 6 à 8 semaines avec guérison totale.

◆ Lowry et Schuman(1956)

Quatre expositions accidentelles au niveau de silos sont rapportées. Deux expositions se sont avérées fatales et se caractérisent par une apparition des symptômes ainsi qu'une mortalité retardée 27 et 30 jours après l'exposition. Les concentrations et durées d'exposition ne sont pas relatées. Dans ces deux cas, des signes d'irritation oculaires et respiratoires ont été notés au cours de l'exposition. A l'autopsie, des lésions d'œdème pulmonaire associé à une bronchiolite fibreuse oblitérante sont observées. Dans les deux cas non mortels, l'origine de la consultation a été de la toux, une cyanose et une dyspnée apparues environ trois semaines après exposition. L'examen radiographique a mis en évidence une infiltration nodulaire diffuse caractérisant une bronchiolite oblitérante d'origine chimique (aucun agent pathogène mis en évidence).

Des résultats identiques sont présentés dans l'article de Zwener *et al.*, (1992) et Milne (1969).

◆ Norwood *et al.*, (1966)

Deux travailleurs ont été exposés à des concentrations de 25 à 90 ppm de dioxyde d'azote au sein d'un réacteur. Le premier, ayant été exposé pendant 15 minutes, a présenté de la toux et des difficultés respiratoires persistantes quelques semaines après l'exposition. Le second a été exposé environ 30 minutes sans signes cliniques très marqués hormis une gêne respiratoire.

Toutefois, 18 heures après l'exposition, une consultation pour difficultés respiratoires croissantes a révélé une altération des capacités ventilatoires ainsi qu'une congestion et un œdème pulmonaire. Une hospitalisation de 7 jours a suivi l'accident avec une disparition de l'œdème pulmonaire dans les 3 jours. La diminution des capacités ventilatoires a persisté pendant 21 jours. 73 jours après l'exposition, l'examen radiologique n'a pas mis en évidence de lésions respiratoires résiduelles.

Cet article rapporte également une synthèse des effets potentiels chez l'homme publiés dans la littérature en 1966 selon le niveau d'exposition au dioxyde d'azote. Ces effets sont répertoriés dans le tableau suivant :

Durée (min)	Concentration (ppm)	Effets chez l'homme
5	400	Œdème pulmonaire et mort
15	200	
30	150	
60	100	
5	200	Œdème pulmonaire avec éventuelles lésions pulmonaires chroniques
15	100	
30	75	
60	50	
5	100	Irritation respiratoire, douleurs thoraciques
15	50	
30	40	
60	25	

◆ Tse et Bockman (1970)

Quatre pompiers ont été exposés environ 10 minutes à du dioxyde d'azote à des concentrations non déterminées. Dans les 4 cas, la réponse toxique suite à l'exposition s'est caractérisée par une première phase avec des signes d'irritation respiratoire lors de l'exposition suivie d'une phase de latence asymptomatique (de 3 à 30 heures) puis du développement retardé d'une pneumopathie d'origine chimique. Suite à une relative période de quiescence, une troisième phase de signes cliniques s'est manifestée 2 à 6 semaines après. Les biopsies effectuées ont montré une bronchiolite avec un envahissement alvéolaire par des fibroblastes et du collagène. Six mois après l'exposition, des figures de bronchiolite avec un élargissement alvéolaire et un épaississement des septum alvéolaires sont encore observées.

Des résultats identiques sont présentés dans l'article de Jones *et al.*, (1973).

◆ Douglas *et al.*, (1989)

Une analyse des accidents produits sur une période de 22 ans auprès de silos à grains est présentée. Les silos, en fonction de leur remplissage peuvent générer des concentrations de 200 à 2 000 ppm du dioxyde d'azote. Sur 17 patients exposés suite à des accidents, 11 présentaient une atteinte aiguë pulmonaire dont un cas fatal (œdème pulmonaire aigu). Les signes cliniques observés ont été des pertes de conscience ayant entraîné dans certains cas des chutes, une respiration difficile, des douleurs thoraciques et des irritations oculaires. Ces symptômes ont régressé en 0,5 à 42 heures (en moyenne 10 heures); seul un individu a présenté des signes cliniques persistants pendant 5 semaines. Une apparition retardée de dyspnée, toux ou hyperpnée a également été enregistrée. Six des patients ont présenté de plus une méthémoglobinémie. Les durées d'exposition rapportées sont de 5 à 15 minutes mais aucune mesure de concentrations n'a été réalisée.

◆ **Bauer et al., (1998)**

Les répercussions de l'émission de dioxyde d'azote à partir d'une citerne de 100 000 pounds (soit environ 50 tonnes) de tétraoxyde d'azote (N_2O_4) sont rapportées. La durée maximale d'exposition est estimée à 90 minutes (de l'accident à l'évacuation). Les concentrations sont supposées élevées en raison de la couleur brun orangée des vapeurs de dioxyde d'azote (incolore à faibles concentrations). Parmi les 3 000 à 4 000 individus exposés, 528 personnes se sont rendues aux urgences pour des céphalées, des brûlures oculaires et des irritations de la gorge dans les 30 premières heures après l'accident. 165 patients ont présenté des modifications respiratoires dans la semaine suivante telle que de la dyspnée, une respiration bruyante, de la toux et des images radiologiques montrant des infiltrats interstitiaux pulmonaires. La durée moyenne d'hospitalisation pour les cas les plus graves est de 3,5 jours.

3.2 DONNEES EXPERIMENTALES CHEZ DES VOLONTAIRES SAINS

◆ **Henschler et al., (1960)**

Plusieurs expositions contrôlées au dioxyde d'azote ont été réalisées chez 3 volontaires sains. Une exposition de 120 minutes à 20 ppm n'a pas induit de signes cliniques d'irritation. A 30 ppm, les 3 individus ont perçu une odeur intense en pénétrant dans la chambre d'exposition, s'atténuant rapidement pour être non perceptible au bout de 25 à 40 minutes. Un sujet a présenté des démangeaisons au niveau du nez et de la gorge après 30 minutes, deux autres après 40 minutes.

Après 70 minutes d'exposition, ils ont tous ressenti des brûlures et présenté une toux sévère diminuant à partir de 100 minutes. Les sensations de brûlures localisées au départ au niveau des voies aériennes supérieures ont été ressenties progressivement profondément dans la cage thoracique. En fin d'exposition, une dyspnée est observée ainsi qu'une sécrétion marquée de mucus dans les voies aériennes. La sensation d'oppression et l'augmentation des sécrétions muqueuses ont persistées pendant plusieurs heures après exposition.

◆ **Meyers et Hine (1961)**

Une étude des réponses sensorielles à une exposition au dioxyde d'azote a été réalisée chez 8 volontaires sains. Des concentrations de 1, 5, 13 ou 25 ppm de dioxyde d'azote ont été pratiquées pendant 5 minutes. Pour les concentrations de 13 et 25 ppm, une irritation nasale a été observée chez les volontaires.

Une exposition de 60 minutes à 10 ppm de dioxyde d'azote s'est caractérisée par un inconfort respiratoire, avec des irritations pharyngées et nasales.

◆ **Folinsbee et al., (1978)**

Quinze jeunes adultes mâles, non fumeurs, répartis en 3 groupes ont été exposés pendant 120 minutes à 0,62 ppm de dioxyde d'azote au cours desquelles des périodes de 15, 30 ou 60 minutes d'exercice ont été réalisées.

Aucun des individus exposés n'a manifesté de signe clinique. L'analyse des réponses métaboliques, cardiovasculaires et pulmonaires n'a pas permis de mettre en évidence de

modification liée à l'exposition. Bien que les phases d'exercice aient été différentes entre les groupes, aucune différence significative n'a été mise en évidence.

◆ **Hackney et al., (1978)**

Des volontaires (20) à statut allergique variable, fumeurs ou non ont été exposés pendant 120 minutes à 1 ppm de dioxyde d'azote. Pendant l'exposition, 15 minutes d'exercice léger ont été pratiquées, entrecoupées de 30 minutes de repos. Les réactions physiologiques ont été mesurées en fin d'exposition pendant 20 minutes. L'exposition a été renouvelée deux jours consécutifs.

Les résultats montrent une absence de réaction physiologique suite à cette exposition. Seuls cinq individus ont présentés des signes cliniques d'irritation nasale et laryngée avec pour un des sujets de la toux et des douleurs thoraciques ressenties uniquement le deuxième jour. L'apparition de ces symptômes n'a pas été jugée significative par rapport aux témoins.

◆ **Von Nieding et al., (1978)**

Des hommes sains, fumeurs ou non, ont été exposés au dioxyde d'azote seul à 5 ppm ou en association avec de l'ozone (0,1 ppm) et/ou du dioxyde de soufre (5 ppm) pendant 120 minutes. Suite à l'exposition, des stimulations bronchiques ont été pratiquées par des aérosols à 1, 2 ou 3 % d'acétylcholine.

Les résultats montrent que le dioxyde d'azote à 5 ppm seul ou associé, induit une diminution significative de la pression partielle en oxygène ainsi qu'une augmentation de la résistance des voies aériennes.

◆ **Hazucha et al., (1983)**

Des jeunes adultes mâles (15/groupe) sains ou asthmatiques ont été exposés à 0,1 ppm de dioxyde d'azote pendant 60 minutes. Des mesures des fonctions respiratoires ont été effectuées après exposition et provocation à la métacholine. Une légère augmentation non significative de la résistance des voies aériennes est observée chez les individus sains et asthmatiques sans manifestations cliniques.

◆ **Linn et Hackney (1984)**

Des expositions contrôlées à 4 ppm de dioxyde d'azote pendant 75 minutes ont été effectuées chez 25 individus avec des périodes de 15 minutes d'exercice (vélo) modéré ou intensif. Différents paramètres physiologiques ont été enregistrés. Aucune modification significative de la résistance des voies aériennes, de la fréquence cardiaque, de la pression sanguine n'a été mise en évidence. Les principaux symptômes ressentis sont des céphalées et /ou de l'asthénie. De rares irritations des voies respiratoires sont décrites. Seul un état de fatigue notable persiste dans les 7 jours suivants l'exposition.

◆ **Mohsenin (1988)**

Dix-huit volontaires sains non fumeurs ont été exposés à la concentration de 2 ppm de dioxyde d'azote ou de l'air pendant 60 minutes à une semaine d'intervalle (NO₂ puis air ou air puis NO₂ ; étude en double aveugle). L'exploration fonctionnelle de la fonction respiratoire a été réalisée pendant 30 minutes, 15 minutes après le début de l'exposition.

Certains sujets ont détecté la présence du dioxyde d'azote par son odeur caractéristique. Quelques uns ont décrit une sécheresse de la gorge mais sans aucun autre signe d'irritation. Les mesures des paramètres respiratoires n'ont pas mis en évidence de modification significative suite à cette exposition. L'impact sur la réactivité bronchique a également été évalué par stimulation à la métacholine environ 10 minutes en fin d'exposition. Une augmentation de 20 % (statistiquement significative) de la réactivité bronchique a été observée.

◆ **Frampton et al., (1991)**

Des volontaires sains non fumeurs, sans antécédents de pathologies respiratoires ont été exposés deux fois au dioxyde d'azote pendant 3 heures à 2 semaines d'intervalle. Un premier groupe a été exposé à une concentration constante de 0,60 ppm, le second à un niveau de base de 0,05 ppm mais avec des pics de 15 minutes à 2 ppm et le troisième groupe à une concentration constante de 1,5 ppm. Des périodes de 10 minutes d'exercice ont été pratiquées toutes les 30 minutes au cours de l'exposition.

Les signes cliniques décrits sont des irritations des voies aériennes supérieures, des céphalées et de l'asthénie. Néanmoins, l'apparition de ces symptômes n'est statistiquement significative. Concernant la réactivité bronchique, aucune modification n'est enregistrée pour les expositions soit continue à 0,6 ppm, soit avec des pics de 2 ppm. Par contre, l'exposition à 1,5 ppm de dioxyde d'azote induit une augmentation de la réactivité des voies aériennes pour une exposition de 180 minutes.

◆ **Kim et al., (1991)**

De jeunes athlètes sans antécédents allergiques, ont été soumis à des tests à l'effort couplés à des expositions de 30 minutes à 0,18 et 0,3 ppm. Les fonctions respiratoires ont été évaluées avant et après exposition. Aucune modification ventilatoire significative n'a été observée au cours de cette étude.

◆ **Devlin et al., (1992)**

Dans cette étude, 10 sujets ont été exposés pendant 4 heures à 2 ppm de dioxyde d'azote en alternant des phases de 15 minutes de repos et d'exercice. Les fonctions respiratoires ont été évaluées par spiromètre et la réactivité bronchique par test de provocation à la métacholine.

Dans ces conditions d'exposition, aucune modification des fonctions respiratoires et de la réactivité bronchique n'a été enregistrée. Néanmoins, l'analyse des liquides de lavages broncho-alvéolaires réalisées montre un afflux de polynucléaires neutrophiles et une modification de l'activité phagocytaire des macrophages témoignant d'une inflammation modérée du tractus respiratoire.

◆ **Helleday et al., (1995)**

L'impact du dioxyde d'azote sur l'activité muco-ciliaire bronchique a été étudié chez 24 volontaires sains non fumeurs, sans antécédents de pathologies respiratoires par bronchoscopie optique. Un premier groupe (A) a été exposé 20 minutes à 1,5 ppm et l'investigation a été effectuée 45 minutes après. Le second groupe (B) a été placé dans les mêmes conditions mais exposé à 3,5 ppm. Pour le troisième groupe (C), l'exploration a été réalisée 24 heures après 4 heures d'exposition à 3,5 ppm.

Pour les groupes A et B, aucune activité ciliaire n'est détectée 45 minutes après l'exposition. Par contre, pour le groupe C, une augmentation significative de l'activité ondulatoire ciliaire est observée. Les auteurs concluent que des expositions de courte durée (4 heures) au dioxyde d'azote provoque une réduction importante de l'activité ciliaire bronchique avec un retour à la normal au cours des 24 heures suivant l'exposition.

◆ **Blomberg et al., (1997)**

Des volontaires sains non fumeurs ont été exposés pendant 240 minutes à 2 ppm de dioxyde d'azote. Une exploration de la fonction respiratoire (biopsies, lavages broncho-alvéolaires) a été effectuée 1,5 ou 6 heures après l'exposition.

Les résultats de cette étude montre une inflammation neutrophilique des voies aériennes associée à une augmentation de la sécrétion d'interleukine IL-8 mais sans signe de recrutement de cellules inflammatoires au niveau des muqueuses proximales de l'appareil respiratoire. Il apparaît que le site majeur de l'inflammation suite à une exposition au dioxyde d'azote soit les bronchioles terminales et les alvéoles.

4. DONNEES DE TOXICITE CHEZ L'ANIMAL

4.1 ETUDE DES EFFETS LETAUX

Le détail des conditions expérimentales est donné en Annexe (cf. §9., Tableau 1). La cotation des études selon les critères de classification de Klimisch est reportée à la suite de la référence bibliographique pour les études faisant l'objet d'une analyse probit (cotation "x").

4.1.1 Chez les Rongeurs : Rat, Souris et Cobayes

La plupart des études de détermination de la toxicité aiguë (DL₅₀, CL₅₀) par inhalation sont effectuées sur rongeurs. Les espèces généralement utilisées sont le rat et la souris.

Les principaux résultats recueillis sont reportés ci-après :

◆ Gray et al., (1954) - cotation 3

Des rats males albinos ont été exposés de 2 à 240 minutes au dioxyde d'azote à diverses concentrations. Les données individuelles de mortalité sont reportées en Annexe.

La mortalité observée a été induite par un œdème aigu du poumon. Les CL₅₀ suivantes ont été déterminées :

- Rat 30 minutes CL₅₀ = 138 ppm
- 240 minutes CL₅₀ = 67 ppm

◆ Carson et al., (1962) - cotation 2

Des rats (10/lot) ont été exposés pendant 5, 15, 30 et 60 minutes à des diverses concentrations de dioxyde d'azote. Les animaux survivants ont été observés pendant 21 jours. Les données individuelles de mortalité ne sont pas disponibles. Les CL₅₀ suivantes ont été déterminées :

- Rat 5 minutes CL₅₀ = 416 ppm
- 15 minutes CL₅₀ = 201 ppm
- 30 minutes CL₅₀ = 162 ppm
- 60 minutes CL₅₀ = 115 ppm

Les signes cliniques observés sont une détresse respiratoire sévère, des irritations oculaires et une perte de poids corporel. La mortalité est observée dans les 30 minutes à 3 jours après l'exposition. A l'autopsie, une congestion pulmonaire est observée et des nodules pulmonaires de surinfection bactérienne chez quelques animaux survivants.

◆ Hine et al., (1970) - cotation 1

Le dioxyde d'azote a fait l'objet d'une étude de mortalité chez 5 espèces animales dont le rat, la souris et le cobaye à des concentrations de 40 à 250 ppm et pour des durées d'exposition de 5 à 1 440 minutes. Les données individuelles de létalité sont reportées en Annexe.

Les résultats montrent une sensibilité plus grande chez le cobaye par rapport au rat et à la souris. A l'autopsie, les lésions observées sont de l'œdème laryngé et pulmonaire avec une hyperémie, une exsudation et des foyers de nécrose des cellules épithéliales. Chez les animaux survivants, des foyers de pneumonie ont été décrits dans quelques cas (surinfections secondaires). Aucune lésion de bronchiolite ou fibrose interstitielle n'est observée 10 à 14 jours après l'exposition.

Des mortalités retardées 96 heures et 8 jours après l'intoxication ont été enregistrées. Les animaux ont présenté une altération importante de leur état général. L'autopsie a révélé soit des lésions de pneumonie, soit de broncho-pneumonie.

◆ **Mc Ewen et Vernot (1970) - cotation 2**

Des rats (10/lot) et des souris (15/lot) ont été exposés pendant 5 minutes à différentes concentrations de dioxyde d'azote. Les données individuelles de mortalité sont reportées dans le tableau en Annexe.

La plupart des cas létaux ont été observés dans les 12 heures suivants l'exposition et ont résulté du développement d'un œdème aigu du poumon associé parfois à des hémorragies. Les CL₅₀ suivantes ont été calculées :

- Rat 5 minutes CL₅₀ = 831 ppm
- Souris 5 minutes CL₅₀ = 1 880 ppm

◆ **Book (1982) - cotation 2**

Une étude de mortalité a été réalisée chez le rat, la souris, le cobaye, le lapin et le chien pour des concentrations en dioxyde d'azote de 0,5 à 250 ppm et des temps d'exposition de 5 minutes à plusieurs mois. Les données individuelles de mortalité ne sont pas disponibles. (Pour des raisons de lisibilité, les espèces n'ont pas été séparées lors de la rédaction).

Cet auteur a déterminé pour les 5 espèces des équations pour la détermination de la CL₅₀ qui sont les suivantes :

- Chien C = 444 T^{-0,3} soit CL₅₀ 60 minutes = 130 ppm
- Cobaye C = 287 T^{-0,28} soit CL₅₀ 60 minutes = 91 ppm
- Lapin C = 442 T^{-0,28} soit CL₅₀ 60 minutes = 141 ppm
- Rat C = 374 T^{-0,3} soit CL₅₀ 60 minutes = 110 ppm
- Souris C = 265 T^{-0,24} soit CL₅₀ 60 minutes = 99 ppm

Avec T le temps en minutes, C la concentration en ppm et r le coefficient de régression.

En utilisant ces résultats, associés aux valeurs des volumes minutes pour chaque espèce, cet auteur a estimé une CL₅₀ de 174 ppm pour 60 minutes chez un homme "standard" de 70 kg.

◆ **Brown et al., (1983) - cotation 1**

Les couples temps - concentrations de 1 435 ppm / 1 minute et 518 ppm / 5 minutes ont été testés chez des rats males (20/lot). Les sacrifices ont été réalisés soit immédiatement, soit 6 heures, 24 heures, 2 jours ou 5 jours après l'exposition.

A la concentration de 1 435 ppm, 24 heures après l'exposition, les animaux ont présenté des difficultés respiratoires qui ont rétrogradé dans les 2 jours. L'examen histologique effectué à différents temps après l'exposition montre le développement d'un œdème pulmonaire avec collapsus alvéolaire et infiltration macrophagique à partir de 6 heures puis d'intensité croissante. Seul un animal, 5 jours après l'exposition a présenté des figures de consolidation pulmonaire.

A la concentration de 518 ppm, un animal a été retrouvé mort 2 jours après l'exposition. Les signes cliniques observés sont des difficultés respiratoires marquées persistantes jusqu'à 5 jours. L'examen histologique a révélé un œdème pulmonaire avec infiltration macrophagique d'intensité croissante 24 heures après l'exposition et jusqu'à 5 jours. En général, les lésions microscopiques ont été plus marquées à 518 ppm qu'à 1 435 ppm.

L'examen en microscopie électronique a révélé une atteinte prédominante des pneumocytes de type II (producteurs du surfactant alvéolaire).

◆ **Elsayed et al., (2002) - cotation 1**

Des rats males (5/lot) ont été exposés oro-nasale à 200 ppm de dioxyde d'azote pendant 15 minutes (valeurs de CL₅₀). Ils ont été euthanasiés 1 heure après l'exposition. Les résultats montrent une diminution de 59 % du volume inspiratoire pendant l'exposition. Au niveau des lavages pulmonaires, une diminution du nombre de macrophages alvéolaires est observée ainsi qu'une prolifération des cellules épithéliales. Au niveau sanguin, les dosages montrent une augmentation des taux de potassium et de méthémoglobine et une diminution des taux de vitamines C et E et d'acide urique. Une exposition brève au dioxyde d'azote à des concentrations proches de la CL₅₀ pour 15 minutes induit donc des modifications physiologiques, biochimiques et morphologiques pulmonaires avec des répercussions systémiques associées.

4.1.2 Chez le Lapin

◆ **Carson et al., (1962) - cotation 2**

Des lapins (5/lot) ont été exposés pendant 15 minutes à diverses concentrations de dioxyde d'azote. Les données individuelles de mortalité ne sont pas disponibles. Des sacrifices sériés ont été réalisés 21, 42 et 90 jours après exposition. Les animaux ont présenté des signes cliniques identiques à ceux décrits chez le rat (cf. supra). La CL₅₀ suivante a été déterminée :

- Lapin 15 minutes CL₅₀ = 315 ppm

A l'autopsie, les animaux survivants ont présenté des lésions de prolifération épithéliale et d'accumulation macrophagique alvéolaire 21 jours après l'exposition. Ces lésions ne sont pas observées 42 et 90 jours après.

◆ **Hine et al., (1970) - cotation 1**

Le dioxyde d'azote a fait l'objet d'une étude de mortalité chez 5 espèces animales dont le lapin à des concentrations de 40 à 250 ppm et pour des durées d'exposition de 5 à 1 440 minutes. Les données individuelles de létalité sont reportées en Annexe.

Les signes cliniques et les résultats histo-pathologiques sont identiques à ceux décrits chez les rongeurs. Les données de mortalité montrent que lapins présentent une sensibilité moins grande que les rongeurs au dioxyde d'azote.

◆ Meulenbelt *et al.*, (1994) - cotation 1

Des lapins (3/lot) ont été exposés oro-nasalement pendant 10 minutes à 250, 400, 600 ou 800 ppm de dioxyde d'azote. Tous les animaux ont été autopsiés 24 heures après l'exposition. 2/3 lapins exposés à 800 ppm sont morts au cours des 7 heures après l'exposition.

Les lavages broncho-alvéolaires effectués montrent une augmentation des protéines, de l'albumine et d'activités enzymatiques telles que la lactate déshydrogénase ou la glutathione peroxydase. L'examen histologique révèle des hémorragies subpleurales chez tous les animaux. A 250 ppm, il est observé une légère pneumonie catarrhale. A 400 et 600 ppm, les figures de pneumonie sont d'intensité modérée et d'intensité sévère pour 800 ppm avec présence de foyers hémorragiques.

4.1.3 Chez le Chien

◆ Greenbaum *et al.*,(1967) - cotation 2

Trois chiens anesthésiés ont été exposés pendant de 15 à 136 minutes à des concentrations de 0,1 % à 2 % de dioxyde d'azote par voie endotrachéale. Les animaux sont tous morts en cours d'exposition ou dans l'heure suivant l'intoxication.

La mortalité observée résulte du développement d'un œdème pulmonaire associé à une méthémoglobinémie marquée responsable d'une cyanose de la langue et une diminution sévère de la pression artérielle (choc hypoxique).

◆ Hine *et al.*, (1970) - cotation 1

Le dioxyde d'azote a fait l'objet d'une étude de mortalité chez 5 espèces animales dont le chien à des concentrations de 40 à 250 ppm et pour des durées d'exposition de 5 à 1 440 minutes. Les données individuelles de létalité sont reportées en Annexe.

Les signes cliniques et les résultats histo-pathologiques sont identiques à ceux décrits chez les rongeurs. Les données de mortalité montrent que lapins présentent une sensibilité moins grande que les rongeurs au dioxyde d'azote.

4.1.4 Chez les Primates non humains

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

4.2 ETUDE DES EFFETS NON LETAUX

4.2.1 Chez les Rongeurs : Rat et Souris

◆ Carson *et al.*, (1962) - cotation 2

Des rats (30/lot) ont été exposés pendant 5, 15 et 60 minutes à des concentrations de dioxyde d'azote correspondant à 15, 25 et 50 % des valeurs de CL₅₀ précédemment déterminées (cf. §4.1.1.). Des sacrifices sériés ont été effectués 4, 24 et 48 heures après l'exposition et 7, 21 et 42 jours après.

Les expositions à 190, 90 et 72 ppm pendant 5, 15 et 60 minutes induisent des signes d'irritation oculaire et une détresse respiratoire sévère pendant 2 jours avec une récupération complète en 7 jours. Aux concentrations de 104 et 65 ppm pendant 5 et 15 minutes, quelques animaux ont présenté une détresse respiratoire réversible en 1 heure après exposition. L'exposition pendant 60 minutes à 28 ppm se caractérise par des signes modérés d'irritation nasale. Aucun effet adverse n'est observé aux concentrations de 74 et 33 ppm pendant 5 et 15 minutes.

A l'autopsie, quelques animaux ont présenté des lésions de pneumonie chronique sans relation effet-dose dont l'étiologie n'est pas évidente (due à l'exposition ou problème sanitaire?).

◆ **Murphy et al., (1964) - cotation 2**

Des cobayes ont été exposés à des concentrations de 5,2 à 13 ppm de dioxyde d'azote pendant 2 ou 4 heures pour une évaluation des fonctions respiratoires. Des souris ont également été exposées à des concentrations de 3,7 à 20 ppm pendant 6 heures pour une étude de l'activité motrice volontaire.

Chez les cobayes, une exposition de 2 heures à 13 ou 9 ppm provoque une augmentation de la fréquence respiratoire maximale en 60-90 minutes persistante jusqu'en fin d'exposition et avec un retour progressif à la normale 2 à 4 heures après l'exposition. Les expositions de 4 heures à 6,5 et 5,2 ppm ne modifient pas significativement les paramètres fonctionnels respiratoires.

Chez les souris, une diminution de l'activité motrice est enregistrée pour des concentrations entre 3,7 et 7,7 ppm de dioxyde d'azote avec un retour à la normale après l'exposition.

◆ **Dillmann et al., (1967) - cotation 2 ou 3**

Deux lots (2/lot) de souris ont été exposées pendant 6 heures à 35 ppm de dioxyde d'azote. Pour l'un des lots, une pré-exposition de 6 heures à cette concentration a été effectuée. Une analyse histologique et morphométrique des poumons a été réalisée suite à l'exposition. Chez les animaux pré-exposés, une augmentation significative de la paroi capillaire alvéolaire (augmentation du volume cellulaire) est mesurée. Cet épaissement pariétal peut induire une certaine tolérance des animaux vis-à-vis d'une exposition au dioxyde d'azote. Toutefois, aucune modification n'est observée au niveau de la distribution cellulaire du parenchyme pulmonaire.

◆ **Silbaugh et al., (1981) - cotation 1**

L'impact du dioxyde d'azote sur la réaction bronchique a été étudié chez des jeunes cobayes exposés pendant 60 minutes à des concentrations de 7 à 146 ppm. L'évaluation des fonctions respiratoires et des stimulations à l'histamine ont été pratiquées 10 minutes et 2 et 19 heures après l'exposition. Les sacrifices ont été effectués après la troisième série de mesures.

Dix minutes après l'exposition, les cobayes présente une diminution de 50 % de la compliance pulmonaire pour des doses en histamine inférieures à la normale. La réponse à des doses cumulées d'histamine est diminuée proportionnellement à la concentration en dioxyde d'azote.

Deux heures après l'exposition, la réponse à des doses cumulées d'histamine est fortement augmentée sans corrélation avec la concentration d'exposition. Cette augmentation persiste 19 heures après l'exposition.

La fréquence respiratoire apparaît modifiée 10 minutes après l'exposition (diminution) mais tous les paramètres fonctionnels sont normaux 2 et 19 heures après l'exposition.

Ces résultats montrent que le dioxyde d'azote altère la sensibilité bronchique à l'histamine de manière dose-dépendante.

◆ Hidekazu et Fujio (1981) - cotation 2

Des souris males et femelles ont été exposés à des concentrations de 5, 20 et 40 ppm de dioxyde d'azote pendant 12 heures. Les animaux ont reçu une injection d'antigènes 1 heure avant et après l'exposition ou 1, 2 ou 3 jours avant. Quatre jours après l'exposition, les animaux ont été sacrifiés après une injection d'érythrocytes de mouton pour une évaluation de la réponse immunitaire humorale.

Aux concentrations de 20 et 40 ppm, une diminution proportionnelle à la concentration du titre d'hémagglutination, du nombre de cellules souches spléniques et thymiques est observée. L'effet suppresseur apparaît plus marqué chez les males que les femelles immunisés 1 heure avant l'exposition. Aucune modification n'est observée pour une exposition à 5 ppm pendant 12 heures.

Pour une exposition de 20 ppm 1, 2 ou 3 jours après l'immunisation, l'effet suppresseur du dioxyde d'azote est plus intense lorsque les animaux ont été immunisés 2 jours avant l'exposition.

Une exposition de 12 heures à 20 ou 40 ppm de dioxyde d'azote induit une diminution de la réponse immunitaire primaire liée à des altérations cellulaires spléniques et thymiques.

◆ Case et al., (1982) - cotation 1

Des hamsters dorés (5/lot) ont été exposés pendant 6, 24 ou 48 heures à 28 ppm de dioxyde d'azote. Les sacrifices ont été réalisés au terme de l'exposition. Un lot supplémentaire, exposé pendant 48 heures, a été autopsié 48 heures après exposition. Des prélèvements pulmonaires ont été réalisés pour une étude en microscopie optique et électronique.

Aucune modification structurale n'est observée pour l'exposition de 6 heures. Pour les expositions de 24 et 48 heures, une diminution du nombre de cellules ciliées est enregistrée ainsi qu'une hypertrophie des cellules non ciliées, associée (48h) ou non (24h) à une hyperplasie épithéliale. Le lot supplémentaire exposé ne permet pas de mettre en évidence de figures de réparation 48 heures après l'exposition.

En microscopie électronique, il apparaît pour les expositions de 24 et 48 heures une altération de la membrane apicale des cellules épithéliales bronchiolaires et des jonctions serrées intercellulaires. De plus, la durée de l'exposition au dioxyde d'azote n'a pas d'effet systématique sur l'intégrité des jonctions serrées de l'épithélium alvéolaire. Cette perte d'intégrité semble être à la base des modifications de perméabilité responsables de la mise en place de l'œdème pulmonaire.

◆ Suzuki et al., (1982) - cotation 1

Des souris males ont été exposées pendant 24 heures à des concentrations de 5, 10 et 20 ppm de dioxyde d'azote. Une exploration des échanges gazeux et des paramètres fonctionnels respiratoires a été réalisée.

A la concentration de 5 ppm, les résultats montrent une augmentation des échanges gazeux et des taux métaboliques d'oxygène et dioxyde de carbone. Au contraire, pour 10 et 20 ppm, les

échanges gazeux apparaissent diminués en raison de la mise en place de l'œdème pulmonaire et des modifications fonctionnelles ce qui se traduit par des altérations de la physiologie cardiovasculaire pouvant expliquer d'éventuels troubles cardiaques suite à une exposition au dioxyde d'azote.

◆ **Guth et Mavis (1985) - cotation 1**

Les répercussions biochimiques au niveau pulmonaire suite à une exposition au dioxyde d'azote ont été évaluées chez des rats mâles (6/lot) exposés pendant 4 heures à 10, 20, 30 et 40 ppm. Les animaux ont été sacrifiés au terme de l'exposition.

L'étude biochimique des lavages broncho-alvéolaires effectués montre une augmentation significative d'activités enzymatiques telles que la lactate déshydrogénase ou l'aryl sulfatase à 30 et 40 ppm. Les taux de protéines et d'acide sialique sont également augmentés pour 20, 30 et 40 ppm. La diminution du nombre et du contenu enzymatique des cellules présentes dans les lavages suggère que les modifications biochimiques observées sont liées à l'altération de ces cellules. L'action toxique alvéolaire du dioxyde d'azote semble une action directe sur les cellules présentes.

◆ **Hayashi et al., (1987) - cotation 2**

85 rats mâles ont été exposés à 20 ppm de dioxyde d'azote pendant 20 heures. Des sacrifices sériés ont été réalisés de 24 heures à 35 jours après l'exposition. L'étude microscopique des cellules alvéolaires montre 24 et 48 heures après l'exposition, une vacuolisation cytoplasmique des cellules de type I. Trois, 5 et 15 jours après l'exposition, une hyperplasie croissante des cellules de type II est observée qui régresse 20 jours après exposition par desquamation dans la lumière alvéolaire. A 35 jours, aucune différence n'est observée par rapport aux animaux témoins. Au niveau de l'interstitium alvéolaire, un œdème manifeste est observée de 3 à 20 jours après l'exposition.

◆ **Siegel et al., (1989) - cotation 1**

Des expositions de 60 minutes à des concentrations de 50 à 140 ppm ont été effectuées chez des souris mâles. Les animaux ont été sacrifiés au terme de l'exposition ou 2 jours après pour des analyses biochimiques et histologiques.

Au terme de l'exposition, l'analyse biochimique du tissu pulmonaire pour 140 ppm une élévation du taux protéique, de l'activité anti-protéase et du poids pulmonaires. La mesure des activités enzymatiques ne révèle aucune modification. A l'histologie, une nécrose alvéolaire et un infiltrat septal sont observés avec une infiltration macrophagique et neutrophilique au niveau des bronchioles terminales.

Deux jours après l'exposition, les activités enzymatiques mesurées ainsi que les paramètres précédemment cités sont augmentés de manière dose-dépendante. Les figures inflammatoires histologiques sont exacerbées avec apparition d'une hyperplasie des cellules épithéliales alvéolaires. L'exposition au dioxyde d'azote se caractérise donc par une première phase exsudative suivie d'une phase proliférative.

◆ **Stavert et Lehnert (1990) - cotation 1**

Des rats ont été exposés à des concentrations de 10, 25, 50 et 100 ppm de dioxyde d'azote pendant 5, 15 ou 30 minutes. Ils ont été sacrifiés 24 heures après l'exposition pour une étude gravimétrique et histologique pulmonaire. L'analyse gravimétrique montre une augmentation significative du poids pulmonaire total et de celui du lobe droit cranial pour les couples 50 ppm/30 minutes et 100 ppm /5 ou 15 minutes.

L'examen histologique révèle une absence des lésions pulmonaires pour les couples 10 ppm/30 minutes et 25 ppm/5 ou 15 minutes. Une inflammation pulmonaire avec hyperplasie des pneumocytes de type II d'intensité concentration et dose-dépendante est observée pour les couples 25 ppm/30 minutes et 50 ppm/5 minutes.

◆ **Meulenbelt et al., (1992) - cotation 1**

Une évaluation histologique et biochimique d'une intoxication au dioxyde d'azote a été réalisée chez des rats males (9/lot) exposés pendant 10 minutes à 75, 125 ou 175 ppm. Des sacrifices sériés ont été pratiqués 6, 24 heures et 3 et 7 jours après l'exposition.

A la concentration de 175 ppm, les animaux ont présenté de la dyspnée ainsi qu'une diminution de l'activité motrice. Une augmentation proportionnelle à la dose inhalée du poids des poumons est enregistrée. Au niveau des lavages broncho-alvéolaires, une augmentation concentration-dépendante du taux de protéines et des activités enzymatiques est mesurée avec des valeurs maximales 24 heures et 3 jours après l'exposition. L'examen histologique révèle un œdème pulmonaire léger réversible en 3 jours chez les animaux exposés à 75 ppm. L'intensité des lésions s'accroît avec la dose. A la concentration de 175 ppm, les animaux ont présenté une pneumonie exsudative sévère réversible en 7 jours.

◆ **Gelzlichter et al., (1992) - cotation 1**

Des expositions à des concentrations de 3,6 à 14,4 ppm de dioxyde d'azote ont été réalisées chez des rats pendant 6, 8, 12, et 24 heures par jour pendant 3 jours successifs. Les dosages biochimiques et cellulaires pratiqués sur les liquides de lavages broncho-alvéolaires montrent une réaction inflammatoire d'intensité plus prononcée pour une exposition de 6 heures/jours par rapport aux animaux contrôles et ceux exposés 24 heures/jour. De plus, pour une exposition de 24 heures par jour, la réaction inflammatoire est proportionnelle à la concentration d'exposition (3,6 < 10,8 ou 14,4 ppm). Il apparaît que l'intensité des lésions pulmonaires suite à une exposition au dioxyde d'azote soit corrélée à un effet "pic" plutôt qu'à un effet cumulatif.

◆ **Lehnert et al., (1994) - cotation 1**

Des rats (8 à 12/lot) ont été exposés à des concentrations de 25 à 250 ppm de dioxyde d'azote pendant 5 à 30 minutes. Les animaux ont été sacrifiés 4, 8, 18, 24 ou 48 heures après l'exposition. La cinétique de développement et la sévérité de l'œdème pulmonaire induit par l'intoxication est proportionnelle au couple concentration / temps d'exposition. La réponse inflammatoire apparaît maximale 24 heures après exposition. Aucune réaction œdémateuse n'est observée pour des expositions de 15 et 25 minutes à 75 et 50 ppm. A l'autopsie, des figures d'infiltrats fibrineux alvéolaires et d'hyperplasie des cellules épithéliales cuboïdes sont observées. L'accumulation de fibrine dans les alvéoles est proportionnelle à la concentration d'exposition. Il

en est de même pour l'hyperplasie épithéliale sauf pour les expositions de 5 minutes pour lesquelles l'hyperplasie observée est similaire même pour les concentrations les plus élevées.

Il apparaît que l'intensité des lésions pulmonaires pour un temps donné soit proportionnelle à la concentration mais que pour une concentration donnée, le développement des lésions soit indépendant de la durée d'exposition.

4.2.2 Chez le Lapin

◆ Vollmuth *et al.*, (1986) - cotation 1

Une étude de clairance pulmonaire suite à une exposition à 0,3, 1, 3, ou 10 ppm de dioxyde d'azote pendant 120 minutes a été réalisée chez des lapins (5/lot). La clairance alvéolaire particulaire a été mesurée pendant 2 à 14 jours après l'exposition. Les mesures effectuées montrent une accélération de la clairance des particules avec une réponse plus importante pour les faibles concentrations soit 0,3 et 1 ppm. Il semble que pour une exposition à 10 ppm de dioxyde d'azote, la clairance soit plus faiblement augmentée qu'aux faibles concentrations en raison du développement de lésions épithéliales alvéolaires.

◆ Schlesinger *et al.*, (1990) - cotation 1

Des lapins males (3/lot) ont été exposés pendant 2 heures à 1, 3, et 10 ppm de dioxyde d'azote puis sacrifiés soit en fin d'exposition, soit 24 heures après. Des lavages broncho-alvéolaires ont été réalisés pour des mesures des taux d'écicosanoïdes pulmonaires. Pour le thromboxane B2, il apparaît une augmentation de son taux pour 1 ppm et une diminution pour 3 et 10 ppm en fin d'exposition. 24 heures après, ce taux reste significativement modifié pour 10 ppm. Une exposition de 2 heures au dioxyde d'azote semble donc altérer le métabolisme de l'acide arachidonique au niveau pulmonaire induisant des modifications dans la génération de médiateurs de l'inflammation tels que les éicosanoïdes.

◆ Meulenbelt *et al.*, (1994) - cotation 1

Des lapins (3/lot) ont été exposés oro-nasale pendant 10 minutes à 125, 175 ou 250 ppm de dioxyde d'azote. Tous les animaux ont été autopsiés 24 heures après l'exposition.

Les lavages broncho-alvéolaires effectués montrent une augmentation des protéines, de l'albumine et d'activités enzymatiques telles que la lactate déshydrogénase à la concentration de 175 ppm. L'examen histologique révèle une pneumonie catarrhale légère à modérée en fonction de la concentration d'exposition.

4.2.3 Chez le chien

◆ Carson *et al.*, (1962) - cotation 2

Des chiens ont été exposés pendant 5, 15 et 60 minutes à des concentrations de dioxyde d'azote correspondant à 15, 25 et 50 % des valeurs de CL₅₀ précédemment déterminées chez le rat (cf. §4.1.1.). Des sacrifices sériés ont été effectués 4, 24, 48 et 72 heures après exposition. Les chiens ont présenté une détresse respiratoire modérée au cours de l'exposition réversible dans les 60 minutes suivant. Une toux modérée ainsi qu'une irritation oculaire ont été observée jusqu'à

48 heures après l'exposition. A l'autopsie, aucune lésion histologique n'a été enregistrée quel que soit le couple concentration - durée d'exposition.

◆ **Greenbaum et al., (1967) - cotation 2**

Trois chiens anesthésiés ont été exposés pendant 5, 15, 22 minutes à 0,5 % de dioxyde d'azote par voie endotrachéale. Les animaux ont été sacrifiés 24 ou 48 heures après l'exposition. Ces expositions se caractérisent par une diminution de la pression artérielle, une méthémoglobinémie, une hypocapnie et une cyanose de la langue.

◆ **Dowell et al., (1971) - cotation 2**

Des chiens Beagle ont été exposés par voie endotrachéale (cannulation sous anesthésie) à des concentrations de 3 à 16 ppm pendant 60 minutes pour une étude des fonctions respiratoires et cardiovasculaires.

Les expositions de 7 à 16 ppm se caractérisent par le développement d'un œdème pulmonaire associé à une hypotension et une diminution de la fréquence cardiaque. La présence d'œdème pulmonaire est également corrélé à une altération de la compliance pulmonaire et du rôle du surfactant. Pour des concentrations supérieures ou égales à 5 ppm, les lavages broncho-alvéolaires montrent une diminution du taux de lécithine pulmonaire.

Des lésions histologiques (altération des membranes cellulaires alvéolaires) sont observées dès 3 ppm (hémorragies de l'endothélium alvéolaire) sans répercussions physiologiques. Ces modifications cellulaires sont associées pour des concentrations de 3 à 12 ppm à la présence de mitochondries turgescents (examen ultrastructural).

4.2.4 Chez les Primates non humains

◆ **Henry et al., (1969) - cotation 2**

Des singes ont été exposés pendant 2 heures à 10, 15, 35, ou 50 ppm de dioxyde d'azote. D'autres animaux ont été en plus infectés par *Klebsiella pneumoniae* une heure après l'exposition.

A 10 et 15 ppm, une diminution du volume tidal est observée sans modification de la fréquence respiratoire avec un retour à la normale dans les 24-48 heures après l'exposition.

Les concentrations de 35 et 50 ppm ont un impact marqué sur les fonctions respiratoires se manifestant par une diminution du volume tidal et une augmentation de la fréquence respiratoire persistant 48 et 72 heures après l'exposition. Au niveau histologique, des érosions et des figures prolifératives de l'épithélium bronchiolaire.

En cas d'infection bactérienne couplée, la concentration de 50 ppm est alors létale. Pour 35 et 10 ppm, la clairance bactérienne pulmonaire est fortement entravée et l'infection persiste jusqu'à 51 jours après l'exposition. L'exposition au dioxyde d'azote semble donc diminuer la résistance des singes aux infections respiratoires en permettant une meilleure colonisation bactérienne par diminution de la clairance alvéolaire.

5. ANALYSE DES DONNEES DE TOXICITE

5.1 ANALYSE DES DONNEES DE MORTALITE

5.1.1 Etudes qualitatives

Une étude répondant à des critères de qualité pertinents correspondant aux conditions d'exposition accidentelle (espèces, conditions expérimentales) et de résultats a été retenue. Cette étude est celle de :

◆ Hine (1970) - cotation 1

Les données expérimentales des études de Mc Ewen (1970) et Gray (1954) n'ont pas été utilisées pour l'analyse probit en raison de leur qualité. De plus, l'analyse probit en tenant compte de ces données n'était pas réalisable (absence de convergence statistique).

Les résultats de ces études sont présentés dans les tableaux en annexe (§9. Tableau 1).

5.1.2 Analyse quantitative

Cette analyse quantitative a été effectuée à partir des études retenues en § 5.1.1.

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.

L'utilisation du logiciel de statistiques (MCSim[®]) a permis d'obtenir les paramètres des équations probit. Le calcul des CL₅₀ et CL₀₁ en fonction du temps d'exposition, s'est basé sur l'estimation des paramètres de régression ainsi obtenus. Les intervalles de confiance sont déterminés sous l'hypothèse d'une fonction de vraisemblance binomiale [FINNEY (1971)] et les tableaux 2, 3, 4, 5 et 6 en Annexe (§ 9.) donnent les valeurs obtenues.

La valeur n de la relation de Haber ($C^n \cdot t = k$) a également été calculée à partir des données analysées et retenues.

Pour chaque espèce animale, l'équation probit établie et la valeur n correspondante sont les suivantes :

- **Chien** $Y = 3,78 \ln(\text{concentration}) + 0,803 \ln(\text{temps}) - 21,4$ $n = 3,78 / 0,803 = 4,71$
- **Cobaye** $Y = 2,66 \ln(\text{concentration}) + 0,694 \ln(\text{temps}) - 14,5$ $n = 2,66 / 0,694 = 3,8$
- **Lapin** $Y = 2,25 \ln(\text{concentration}) + 0,667 \ln(\text{temps}) - 14,1$ $n = 2,25 / 0,667 = 3,37$
- **Souris** $Y = 6,8 \ln(\text{concentration}) + 1,54 \ln(\text{temps}) - 37,3$ $n = 6,8 / 1,54 = 4,42$
- **Rat** $Y = 1,23 \ln(\text{concentration}) + 0,111 \ln(\text{temps}) - 6,04$ $n = 1,23 / 0,111 = 11,1$

Y est une fonction de l'équation probit.

La concentration est exprimée en ppm et le temps en minutes.

Ten Berge et *al.*, (1986) ont utilisé pour différentes substances chimiques, des données expérimentales de mortalité afin de déterminer ce type d'équations probit et calculer la valeur n de la loi de Haber. Pour le dioxyde d'azote, les données expérimentales sont issues des travaux

de Hine *et al.*, (1970) chez différentes espèces animales. Les équations probit obtenues sont les suivantes :

- **Chien** $Y = 6,48\ln C + 1,97\ln T - 38,7$ $n = 3,29$
- **Cobaye** $Y = 2,63\ln C + 0,537\ln T - 10,5$ $n = 4,9$
- **Lapin** $Y = 1,52\ln C + 0,352\ln T - 5,43$ $n = 4,32$
- **Rat** $Y = 3,09\ln C + 0,885\ln T - 15,2$ $n = 3,49$
- **Souris** $Y = 6,42\ln C + 1,76\ln T - 35,6$ $n = 3,65$

De plus, dans le Green Book (TNO, 1992), des équations probit sont également proposées qui sont celles de Ten Berge (1986). Pour ces équations, les valeurs n calculées varient de 3,3 à 4,9.

Enfin, pour la détermination de la valeur A.E.G.L-3 (Fédéral Register, juillet 2002), les données expérimentales retenues sont celles de Henry *et al.*, (1969) chez le primate, associées à la valeur $n = 3,5$ déterminée par Ten Berge (1986) et à un facteur de sécurité de 3.

Les valeurs publiées par Ten Berge présentent des valeurs pour les paramètres de régression et la constante n de Haber d'un ordre de grandeur le plus souvent semblable aux valeurs déterminées dans cette présente synthèse (même sources) par le logiciel de statistiques McSim.

5.2

ANALYSE DES EFFETS NON LÉTAUX

5.2.1 Synthèse des effets non létaux chez l'homme

D'après les différentes études analysées, le groupe d'experts a retenu les études et les effets critiques suivants pour la détermination des seuils d'effets non létaux :

Concentration (ppm)	Temps (min)	Effets	Référence
20	120	Absence d'irritation	Henschler et al., (1960)
30		Dyspnée, hypersécrétion de mucus respiratoire	
200	5	Séquelles respiratoires chroniques après œdème pulmonaire	Norwood et al., (1966)
100	15		
75	30		
50	60		
100	5	Irritations des voies respiratoires	
50	15		
40	30		
25	60		
1	120	Irritations nasale et pharyngée	Hackney et al., (1978)
5	120	Diminution de la pression artérielle et augmentation de la résistance des voies aériennes	Von Niedin et al., (1978)
4	75	Céphalées, asthénie	Linn et Hackney (1984)
3,5	240	Réduction activité ciliaire bronchique	Helleday et al., (1995)
2	240	Inflammation des voies aériennes	Blomberg et al., (1997)

Synthèse des effets non létaux chez l'animal

D'après les différentes études analysées, le groupe d'experts a retenu les études et les effets critiques suivants pour la détermination des seuils d'effets non létaux :

Espèce	Concentration (ppm)	Temps (min)	Effets	Référence
Rat	190	5	Irritations oculaires et détresse respiratoire	Carson <i>et al.</i> , (1962)
	90	15		
	72	60		
Cobaye	13	120	Augmentation de la fréquence respiratoire	Murphy <i>et al.</i> , (1964)
Rat	26	24 h	Hyperplasie épithéliale respiratoire, immunodépression transitoire	Schnitzlein <i>et al.</i> , (1980)
Cobaye	146	60	Augmentation de la réactivité bronchique	Silbaugh <i>et al.</i> , (1981)
Souris	20-40	720	Atteintes cellulaires splénique et thymique	Hidekazu et Fujio (1981)
Rat	20	1 200	Absence de lésions 35 jours après exposition	Hayashi <i>et al.</i> , (1987)
Rat	25	30	Inflammation et hyperplasie respiratoire	Stavert <i>et Lehnert</i> (1990)
	50	5		
Rat	175	10	Pneumonie sévère réversible en 7 jours	Meulenbelt <i>et al.</i> , (1992)
Singe	35	120	Erosions et figures prolifératives de l'épithélium bronchiolaire	Henry <i>et al.</i> , (1969)
	10-35	120	Diminution de la résistance aux infections bactériennes	

6. REVUE DES RESULTATS

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

Les études de létalité chez l'animal sont disponibles chez les rongeurs, les lapins et les chiens avec une sensibilité nettement plus importante chez les rongeurs.

De plus, les données disponibles chez l'homme et l'animal permettent de constater que les mécanismes d'action toxique de cette substance sont identiques et que les cinétiques de pénétration par voie pulmonaire ne diffèrent pas significativement. Ceci permet donc d'extrapoler aisément les données animales à l'homme.

De plus, il est intéressant de souligner que le dioxyde d'azote est essentiellement un irritant des voies aériennes.

6.2 SEUILS D'EFFETS LETAUX CHEZ L'HOMME

Les tableaux N°2, 3, 4, 5 et 6 donnent pour chaque espèce (rat, souris, cobaye, lapin et chien) la CL₅₀ et la CL₀₁ et leurs intervalles de confiance pour des durées d'exposition de 1, 10, 20, 30 et 60 minutes. Les valeurs de CL₀₁ obtenues en fonction du temps pour cinq espèces animales sont les suivantes :

CL ₀₁ (ppm)					
Temps (min)	Rat	Souris	Cobaye	Lapin	Chien
1	21	173	98,5	182	170
10	17	102	55	93	102
20	16	88	46	76	89
30	15	80	41	68	81
60	14,5	68,5	35	55	70

Sachant que les analyses probit pour les différentes espèces ont été effectuées à partir de la même étude (Hine *et al.*, 1970), la qualité des données expérimentales est équivalente quelle que soit l'espèce. L'analyse des intervalles de confiance des valeurs de CL₀₁ obtenues montre une puissance statistique meilleure pour les résultats déterminés chez la souris. Les résultats obtenus chez le rat dans l'étude de Hine *et al.*, (1970) ne peuvent être retenus par manque de convergence statistique des données individuelles de mortalité (intervalles de confiance élevés) chez cette espèce.

De plus, d'après les données disponibles dans la littérature, il apparaît que les rongeurs semblent être plus sensibles que l'homme à l'action toxique du dioxyde d'azote. Par exemple, il est décrit un impact respiratoire de même intensité chez l'homme exposé à 30 ppm pendant 120 minutes (Henschler *et al.*, 1960), le chien exposé à 20 ppm pendant 24 heures (Hine *et al.*, 1970) et le singe exposé à 35 ppm pendant 120 minutes (Henry *et al.*, 1969).

De plus, l'analyse de la physiopathogénie du dioxyde d'azote montre que ce toxique a un mécanisme d'action identique (modification des jonctions cellulaires) chez l'homme et quelle que soit l'espèce animale envisagée. Ainsi, le seuil toxique dépend donc de la physiologie respiratoire de l'espèce ainsi que de la dose alvéolaire totale (corrélée à la fréquence respiratoire, taux de rétention, surface alvéolaire d'absorption).

Ainsi, les experts toxicologues ont convenu de retenir les valeurs déterminées chez la souris (données quantitativement les meilleures) pour la fixation des seuils des effets létaux en cas d'émission accidentelle de dioxyde d'azote :

TEMPS (min)	CONCENTRATION	
	mg/m ³	ppm
1	320	170
10	188	100
20	169	90
30	150	80
60	132	70

6.3 SEUILS DES EFFETS IRREVERSIBLES

Les données disponibles dans la littérature ne permettent pas d'établir avec certitude un seuil des effets irréversibles. Des altérations histologiques peuvent éventuellement entraîner des séquelles observées dans les deux études suivantes qui ont été retenues par les experts toxicologues :

L'étude de Norwood *et al.*, (1966) en synthèse propose comme couples concentration/durée d'exposition pour le développement de séquelles respiratoires les valeurs 200 ppm/5 minutes, 100 ppm/15 minutes, 75 ppm/30 minutes et 50 ppm/60 minutes. Chez le singe, l'étude de Henry *et al.*, (1969) évoque la présence d'érosions et proliférations épithéliales respiratoires pour 35 ppm et une exposition de 120 minutes.

L'analyse de ces données montre que les concentrations d'exposition pour des effets irréversibles sont très proches des seuils des effets létaux. L'application de la loi de Haber pour les valeurs de ces études avec comme valeur de "n" celle déterminée par l'analyse probit chez la souris (soit 4,4) permet de calculer les seuils suivants :

TEMPS (min)	Norwood / homme	Henry / singe
	ppm	ppm
1	127	104
10	75	62
20	64	53
30	59	48
60	50	41

Sachant que l'étude de Norwood *et al.*, ne décrit pas le type de séquelles respiratoires observées, les experts toxicologues ont convenu de retenir les valeurs calculées à partir de l'étude de Henry *et al.*, pour laquelle des lésions histologiques sont décrites. Ainsi, les seuils des effets irréversibles suivants pour le dioxyde d'azote ont été retenus :

TEMPS (min)	CONCENTRATION	
	mg/m ³	ppm
1	197	105
10	113	60
20	103	55
30	94	50
60	75	40

6.4 SEUILS DES EFFETS REVERSIBLES

Concernant les effets réversibles, l'analyse des données disponibles dans la littérature par les experts toxicologues du groupe de consensus permet de mettre en évidence des données chez l'homme de bonne qualité pour la fixation des seuils.

Il peut être retenu l'étude de Meyers et Hine (1961) qui montre par un inconfort respiratoire, avec des irritations pharyngées et nasales pour une exposition de 60 minutes à 10 ppm de dioxyde d'azote. De même, Von Nieding *et al.*, (1978) ont montré que le dioxyde d'azote à 5 ppm seul ou associé, pendant 120 minutes, induit une diminution significative de la pression partielle en oxygène ainsi qu'une augmentation de la résistance des voies aériennes. Enfin, Linn et Hackney (1984) ont observé chez des individus exposés à 4 ppm de dioxyde d'azote pendant 75 minutes de rares irritations ainsi que des céphalées et une asthénie réversibles.

De plus, ces données sont confortées par des éléments disponibles chez l'animal. En effet, l'étude de Stavert et Lenhert (1990) montre une inflammation des voies respiratoires pour les couples 25 ppm/30 minutes et 50 ppm/5 minutes chez le rat. L'étude de Henry *et al.* (1969) chez le singe montre qu'une exposition de 120 minutes à 10 ppm de dioxyde d'azote entraîne une modification des fonctions respiratoires réversibles en 24 heures.

Ainsi, les experts toxicologues ont convenu de retenir un seuil unique de 5 ppm pour les effets réversibles :

TEMPS (min)	CONCENTRATION	
	mg/m ³	ppm
1	10	5
10	10	5
20	10	5
30	10	5
60	10	5

6.5 SEUIL DE PERCEPTION

Pour le dioxyde d'azote, le seuil de perception retenu correspond au seuil olfactif qui selon les individus varie et est supérieur à 0,2 ppm, et ceci quel que soit le temps d'exposition.

7. CONCLUSION

◆ Seuils d'effets létaux

TEMPS (min)	CONCENTRATION	
	mg/m ³	ppm
1	320	170
10	188	100
20	169	90
30	150	80
60	132	70

◆ Seuils d'effets irréversibles

TEMPS (min)	CONCENTRATION	
	mg/m ³	ppm
1	197	105
10	113	60
20	103	55
30	94	50
60	75	40

◆ Seuils d'effets réversibles

TEMPS (min)	CONCENTRATION	
	mg/m ³	ppm
1	10	5
10	10	5
20	10	5
30	10	5
60	10	5

◆ Seuil de perception

Seuil olfactif : 0,2 ppm

8. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bauer U., Berg D., Kohn M.A., Meriwether R.A. and Nickle R.A.** (1998) - Acute effects of nitrogen dioxide after accidental release. *Public Health Rep*, **113**, 1, 62-70.
- Blomberg A., Krishna M.T., Bocchino V., Biscione G.L., Shute J.K., Kelly F.J., Frew A.J., Holgate S.T. and Sandstrom T.** (1997) - The inflammatory effects of 2 ppm NO₂ on the airways of healthy subjects. *Am J Respir Crit Care Med*, **156**, 2 Pt 1, 418-424.
- Book S.A.** (1982) - Scaling toxicity from laboratory animals to people: an example with nitrogen dioxide. *J Toxicol Environ Health*, **9**, 5-6, 719-725.
- Brown R.F., Clifford W.E., Marrs T.C. and Cox R.A.** (1983) - The histopathology of rat lung following short term exposures to mixed oxides of nitrogen (NO_x). *Br J Exp Pathol*, **64**, 6, 579-593.
- Carson T.R., Rosenholtz M.D., Wilinski F.T. and Weeks M.H.** (1962) - The responses of animals inhaling nitrogen dioxide for single, short-term exposures. *Ind Hyg J*, 457-462.
- Case B.W., Gordon R.E. and Kleinerman J.** (1982) - Acute bronchiolar injury following nitrogen dioxide exposure: a freeze fracture study. *Environ Res*, **29**, 2, 399-413.
- Devlin R., Horstman D., Becker S., Gerrity T. and Madden M.** (1992) - Inflammatory response in humans exposed to 2.0 ppm NO₂. *Am Rev Respir Dis*, **145**, A456.
- Dillmann G., Henschler D. and Thoenes W.** (1967) - [Nitrogen dioxide effects on mouse lung alveoli. Morphometric-electron microscopy studies]. *Arch Toxicol*, **23**, 1, 55-65.
- Douglas W.W., Hepper N.G. and Colby T.V.** (1989) - Silo-filler's disease. *Mayo Clin Proc*, **64**, 3, 291-304.
- Dowell A.R., Kilburn K.H. and Pratt P.C.** (1971) - Short-term exposure to nitrogen dioxide. Effects on pulmonary ultrastructure, compliance, and the surfactant system. *Arch Intern Med*, **128**, 1, 74-80.
- Elsayed N.M., Gorbunov N.V., Mayorga M.A., Kagan V.E. and Januszkiewicz A.J.** (2002) - Significant pulmonary response to a brief high-level, nose-only nitrogen dioxide exposure: an interspecies dosimetry perspective. *Toxicol Appl Pharmacol*, **184**, 1, 1-10.
- Folinsbee L.J., Horvath S.M., Bedi J.F. and Delehunt J.C.** (1978) - Effect of 0.62 ppm NO₂ on cardiopulmonary function in young male nonsmokers. *Environ Res*, **15**, 2, 199-205.
- Frampton M.W., Morrow P.E., Cox C., Gibb F.R., Speers D.M. and Utell M.J.** (1991) - Effects of nitrogen dioxide exposure on pulmonary function and airway reactivity in normal humans. *Am Rev Respir Dis*, **143**, 3, 522-527.
- Gelzleichter T.R., Witschi H. and Last J.A.** (1992) - Concentration-response relationships of rat lungs to exposure to oxidant air pollutants: a critical test of Haber's Law for ozone and nitrogen dioxide. *Toxicol Appl Pharmacol*, **112**, 1, 73-80.
- Gray E., Patton F., Goldberg S. and Kaplan E.** (1954) - Toxicity of the oxides of nitrogen. *Arch Ind Hyg Occup Med*, **10**, 418-422.
- Grayson R.R.** (1956) - Silage gas poisoning : nitrogen dioxide pneumonia, a new disease in agricultural workers. *Ann Intern Med*, **45**, 393-408.
- Green Book TNO** (1992) - Methods for the determination of possible damage, TNO, vol CPR 16E

- Greenbaum R., Bay J., Hargreaves M.D., Kain M.L., Kelman G.R., Nunn J.F., Prys Roberts C. and Siebold K.** (1967) - Effects of higher oxides of nitrogen on the anaesthetized dog. *Br J Anaesth*, **39**, 5, 393-404.
- Guth D.J. and Mavis R.D.** (1985) - Biochemical assessment of acute nitrogen dioxide toxicity in rat lung. *Toxicol Appl Pharmacol*, **81**, 1, 128-138.
- Hackney J.D., Thiede F.C., Linn W.S., Pedersen E.E., Spier C.E., Law D.C. and Fischer D.A.** (1978) - Experimental studies on human health effects of air pollutants. IV. Short-term physiological and clinical effects of nitrogen dioxide exposure. *Arch Environ Health*, **33**, 4, 176-180.
- Hayashi Y., Kohno T. and Ohwada H.** (1987) - Morphological effects of nitrogen dioxide on the rat lung. *Environ Health Perspect*, **73**, 135-145.
- Hazucha M.J., Ginsberg J.F., McDonnell W.F., Haak E.D., Pimmel R.L., Salaam S.A., House D.E. and Bromberg P.A.** (1983) - Effects of 0,1 ppm nitrogen dioxide on airways of normal and asthmatic subjects. *J Appl Physiol*, **54**, 3, 730-739.
- Helleday R., Huberman D., Blomberg A., Stjernberg N. and Sandstrom T.** (1995) - Nitrogen dioxide exposure impairs the frequency of the mucociliary activity in healthy subjects. *Eur Respir J*, **8**, 10, 1664-1668.
- Henry M.C., Ehrlich R. and Blair W.H.** (1969) - Effect of nitrogen dioxide on resistance of squirrel monkeys to Klebsiella pneumoniae infection. *Arch Environ Health*, **18**, 4, 580-587.
- Henschler D., Stier A., Beck H., Neuman W.** (1960) - Odor thresholds of a few important irritant gases and observations in humans exposed to low concentrations. *Arch Gewerbepathol Gewerbehyg*, **17**, 547-570.
- Hidekazu F. and Fujio S.** (1981) - Effects of acute exposure to nitrogen dioxide on primary antibody response. *Arch Environ Health*, **36**, 3, 114-119.
- Hine C.H., Meyers F.H. and Wright R.W.** (1970) - Pulmonary changes in animals exposed to nitrogen dioxide, effects of acute exposures. *Toxicol Appl Pharmacol*, **16**, 1, 201-213.
- INRS** (1996) - Fiche toxicologique n°133 - Monoxyde d'azote, Peroxyde d'azote. Institut National de Recherche et de Sécurité. http://www.inrs.fr/index_fla.html.
- Jones G.R., Proudfoot A.T. and Hall J.I.** (1973) - Pulmonary effects of acute exposure to nitrous fumes. *Thorax*, **28**, 1, 61-65.
- Kim S.U., Koenig J.Q., Pierson W.E. and Hanley Q.S.** (1991) - Acute pulmonary effects of nitrogen dioxide exposure during exercise in competitive athletes. *Chest*, **99**, 4, 815-819.
- Lauwerys R.R.** (2000) - Gaz et vapeurs irritants et asphyxiants - oxydes d'azote. Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. Paris, MASSON, pp. 551-555, 4nd Ed.
- Lehnert B.E., Archuleta D.C., Ellis T., Session W.S., Lehnert N.M., Gurley L.R. and Stavert D.M.** (1994) - Lung injury following exposure of rats to relatively high mass concentrations of nitrogen dioxide. *Toxicology*, **89**, 3, 239-277.
- Linn W.S. and Hackney J.D.** (1984) - Short-term human respiratory effects of nitrogen dioxide : determination of quantitative dose-response profiles - Phase I. Exposure of healthy volunteers to 4 ppm NO₂ Rancho Los Amigos Hospital (Coordinating Research Council). Downey30.
- Lowry T. and Schuman L.M.** (1956) - "Silo-filler's disease" - a syndrome caused by nitrogen dioxyde. *J Am Med Asso*, **162**, 3, 153-160.

- MacEwen J.D. and Vernot E.H.** (1970) - Toxic hazards research unit annual technical report Aerospace Medical Research Laboratory, Wright Patterson Air Force Base. AMRL-TR-70-77, AD 714694.
- Meulenbelt J., van Bree L., Dormans J.A., Boink A.B. and Sangster B.** (1992) - Biochemical and histological alterations in rats after acute nitrogen dioxide intoxication. *Hum Exp Toxicol*, **11**, 3, 189-200.
- Meulenbelt J., van Bree L., Dormans J.A., Boink A.B. and Sangster B.** (1994) - Development of a rabbit model to investigate the effects of acute nitrogen dioxide intoxication. *Hum Exp Toxicol*, **13**, 11, 749-758.
- Meyers F.H., Hine C.H.** (1961) – Some experiences with nitrogen dioxide in animals and man. Presented at the 5th Air Pollution Medical Research Conferences, Dec, 4-7, 1961.
- Milne J.E.** (1969) - Nitrogen dioxide inhalation and bronchiolitis obliterans. A review of the literature and report of a case. *J Occup Med*, **11**, 10, 538-547.
- Mohsenin V.** (1988) - Airway responses to 2.0 ppm nitrogen dioxide in normal subjects. *Arch Environ Health*, **43**, 3, 242-246.
- Murphy S.D., Ulrich C.E., Frankowitz S.H. and Xintaras C.** (1964) - Altered function in animals inhaling low concentration of ozone and nitrogen dioxide. *Am Ind Hyg Ass J*, **25**, 246-253.
- Norwood W.D., Wisheart D.E., Earl C.A., Adley F.E. and Anderson D.E.** (1966) - Nitrogen dioxide poisoning due to metal-cutting with oxyacetylene torch. *J Occup Med*, **8**, 6, 301-306.
- Schlesinger R.B., Driscoll K.E., Gunnison A.F. and Zelikoff J.T.** (1990) - Pulmonary arachidonic acid metabolism following acute exposures to ozone and nitrogen dioxide. *J Toxicol Environ Health*, **31**, 4, 275-290.
- Schnitzlein C.T., Bice D.E., Rebar A.H., Wolff R.K. and Beethe R.L.** (1980) - Effect of lung damage by acute exposure to nitrogen dioxide on lung immunity in the rat. *Environ Res*, **23**, 2, 362-370.
- Siegel P.D., Bozelka B.E., Reynolds C. and George W.J.** (1989) - Phase-dependent response of the lung to NO₂ irritant insult. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, **9**, 4, 303-315.
- Silbaugh S.A., Mauderly J.L. and Macken C.A.** (1981) - Effects of sulfuric acid and nitrogen dioxide on airway responsiveness of the guinea pig. *J Toxicol Environ Health*, **8**, 1-2, 31-45.
- Stavert D.M. and Lehnert B.E.** (1990) - Nitric oxide and nitrogen dioxide as inducers of acute pulmonary injury when inhaled at relatively high concentrations for brief periods. *Inhal Toxicol*, **2**, 53-67.
- Suzuki A.K., Tsubone H., Sagai M. and Kubota K.** (1982) - Changes of gaseous exchange in the lungs of mice exposed to nitrogen dioxide and their recovery process. *Toxicol Lett*, **13**, 1-2, 71-79.
- Ten Berge W.F., Zwarty A. and Appelman L.M.** (1986) - Concentration - Time mortality response relationship of irritant and systemically acting vapours and gases. *Journal of Hazardous Materials*, **13**, 301-309.
- Troncy E., Francoeur M. and Blaise G.** (1997) - Inhaled nitric oxide: clinical applications, indications, and toxicology. *Can J Anaesth*, **44**, 9, 973-988.
- Tse R.L. and Bockman A.A.** (1970) - Nitrogen dioxide toxicity. Report of four cases in firemen. *J Am Med Assoc*, **212**, 8, 1341-1344.

Vollmuth T.A., Driscoll K.E. and Schlesinger R.B. (1986) - Changes in early alveolar particle clearance due to single and repeated nitrogen dioxide exposures in the rabbit. *J Toxicol Environ Health*, **19**, 2, 255-266.

Von Nieding G., Wagner H.M., Krekeler H., Lollgen H., Fries W. and Beuthan A. (1979) - Controlled studies of human exposure to single and combined action of NO₂, O₃, and SO₂. *Int Arch Occup Environ Health*, **43**, 3, 195-210.

Zwemer F.L., Jr., Pratt D.S. and May J.J. (1992) - Silo filler's disease in New York State. *Am Rev Respir Dis*, **146**, 3, 650-653.

9. ANNEXES

Tableau 1 : principales données expérimentales sur la mortalité induite par le dioxyde d'azote.

Etudes	Espèces	Durée d'exposition (min)	Concentration (ppm)	Nombre de décès	Nombre d'animaux par lot	Valeur
Hine <i>et al.</i> (1970)	Rat	5	200	6	12	1
			250	2	4	
		10	200	8	12	
			250	2	4	
		20	200	5	5	
			240	4	4	
			250	4	4	
		30	100	0	5	
			150	2	10	
			200	4	4	
		60	40	0	6	
			50	0	17	
			75	3	31	
			85	6	12	
			100	3	5	
			150	10	13	
		120	50	0	12	
			65	0	9	
			75	1	12	
			100	8	8	
			150	10	12	
		150	100	9	11	
		180	100	10	10	
		240	50	0	12	
			75	7	12	
			85	5	10	
			100	29	29	
			150	4	4	

Etudes	Espèces	Durée d'exposition (min)	Concentration (ppm)	Nombre de décès	Nombre d'animaux par lot	Valeur
Hine <i>et al.</i> (1970)	Rat	480	40	0	6	1
			50	0	12	
			75	12	12	
		1 440	40	0	10	
			50	3	10	
Mc Ewen (1970)	Rat	5	260	1	10	2
			550	4	10	
			590	3	10	
			840	3	10	
			850	3	10	
			1 200	5	10	
			1 250	9	10	
			1 380	10	10	
CL₅₀ 5 min = 831 ppm						
Gray <i>et al.</i> (1954)	Rat	15	680	9	10	3
			360	5	10	
			280	1	10	
		30	200	8	10	
			150	3	10	
			100	1	10	
		240	80	5	10	
			60	1	10	
CL₅₀ 30 min = 138 ppm CL₅₀ 240 min = 67 ppm						

Etudes	Espèces	Durée d'exposition (min)	Concentration (ppm)	Nombre de décès	Nombre d'animaux par lot	Valeur
Hine <i>et al.</i> (1970)	Souris	5	125	0	6	1
			200	4	6	
		10	200	6	6	
		20	200	6	6	
		30	100	2	10	
			125	4	6	
		60	40	0	13	
			50	0	5	
			75	1	6	
			100	8	10	
			125	6	6	
		120	50	0	5	
			75	2	6	
			100	13	14	
		180	45	0	10	
		240	50	0	5	
			75	5	6	
			100	10	10	
			125	6	6	
		480	50	0	5	
			75	6	6	
			100	10	10	
		1 440	50	5	10	

Etudes	Espèces	Durée d'exposition (min)	Concentration (ppm)	Nombre de décès	Nombre d'animaux par lot	Valeur
Mc Ewen	Souris	5	260	1	15	2
			550	4	15	
			590	0	15	
			840	1	15	
			850	0	15	
			1 200	6	15	
			1 250	2	15	
			1 380	7	15	
			1 990	3	15	
			2 560	10	15	
			2 950	11	15	
			2 980	15	15	
CL₅₀ 5 min = 1 880 ppm						
Hine <i>et al.</i> (1970)	Cobaye	5	200	2	2	1
			100	1	2	
		60	150	3	4	
			40	0	6	
			50	1	6	
			75	1	4	
		120	100	2	2	
			50	1	6	
			75	3	4	
			100	3	4	
		240	150	3	3	
			75	2	4	
			480	2	6	
		480	40	2	6	
50	4		6			
		75	4	4		

Etudes	Espèces	Durée d'exposition (min)	Concentration (ppm)	Nombre de décès	Nombre d'animaux par lot	Valeur	
Hine <i>et al.</i> (1970)	Lapin	5	150	0	2	1	
			200	0	2		
		10	200	1	2		
		20	200	2	4		
		30	100	1	3		
			60	50	0		4
				75	1		8
				100	0		4
		150	1	6			
			120	75	0		6
		100	2	4			
			240	75	2		8
		100	3	4			
			150	3	4		
				480	50		0
		75	6	8			
1 440	50		0	4			
Hine <i>et al.</i> (1970)	Chien	20	200	2	2	1	
		30	100	0	2		
		60	50	0	1		
			75	0	2		
			150	2	3		
		120	50	0	2		
			75	0	2		
			100	1	3		
		240	50	0	2		
			75	1	3		
			100	2	2		
		480	40	0	3		
			50	0	2		
			75	1	4		

Tableaux 2, 3, 4, 5 et 6 : Seuils des effets létaux déterminés pour le dioxyde d'azote.

Tableau 2 : Résultats pour les **Rats**

Temps	CL1% [IC95]	CL50% [IC95]
1	2.11.10 ⁺⁰¹ [1.05.10 ⁺⁰¹ ;3.64.10 ⁺⁰¹]	1.37.10 ⁺⁰² [9.38.10 ⁺⁰¹ ;2.09.10 ⁺⁰²]
10	1.70.10 ⁺⁰¹ [9.45.10 ⁺⁰⁰ ;2.62.10 ⁺⁰¹]	1.11.10 ⁺⁰² [8.94.10 ⁺⁰¹ ;1.41.10 ⁺⁰²]
20	1.60.10 ⁺⁰¹ [8.91.10 ⁺⁰⁰ ;2.38.10 ⁺⁰¹]	1.05.10 ⁺⁰² [8.78.10 ⁺⁰¹ ;1.26.10 ⁺⁰²]
30	1.54.10 ⁺⁰¹ [8.72.10 ⁺⁰⁰ ;2.27.10 ⁺⁰¹]	1.01.10 ⁺⁰² [8.67.10 ⁺⁰¹ ;1.19.10 ⁺⁰²]
60	1.45.10 ⁺⁰¹ [8.26.10 ⁺⁰⁰ ;2.09.10 ⁺⁰¹]	9.49.10 ⁺⁰¹ [8.39.10 ⁺⁰¹ ;1.08.10 ⁺⁰²]

Unités: temps en minutes, CL en ppm

Equation probit : $P = \Phi (1.23 \times \ln(\text{concentration}) + 0.111 \times \ln(\text{temps}) - 6.04)$

Tableau 3 : Résultats pour les **Souris**

Temps	CL1% [IC95]	CL50% [IC95]
1	1.73.10 ⁺⁰² [1.43.10 ⁺⁰² ;2.04.10 ⁺⁰²]	2.42.10 ⁺⁰² [2.12.10 ⁺⁰² ;2.75.10 ⁺⁰²]
10	1.02.10 ⁺⁰² [8.86.10 ⁺⁰¹ ;1.16.10 ⁺⁰²]	1.43.10 ⁺⁰² [1.32.10 ⁺⁰² ;1.54.10 ⁺⁰²]
20	8.78.10 ⁺⁰¹ [7.63.10 ⁺⁰¹ ;9.84.10 ⁺⁰¹]	1.22.10 ⁺⁰² [1.15.10 ⁺⁰² ;1.30.10 ⁺⁰²]
30	8.02.10 ⁺⁰¹ [6.98.10 ⁺⁰¹ ;8.94.10 ⁺⁰¹]	1.11.10 ⁺⁰² [1.05.10 ⁺⁰² ;1.18.10 ⁺⁰²]
60	6.85.10 ⁺⁰¹ [6.00.10 ⁺⁰¹ ;7.60.10 ⁺⁰¹]	9.57.10 ⁺⁰¹ [9.11.10 ⁺⁰¹ ;1.00.10 ⁺⁰²]

Unités: temps en minutes, CL en ppm

Equation probit : $P = \Phi (6.8 \times \ln(\text{concentration}) + 1.54 \times \ln(\text{temps}) - 37.3)$

Tableau 3 : Résultats pour les **Cobayes**

Temps	CL1% [IC95]	CL50% [IC95]
1	9.85.10 ⁺⁰¹ [4.09.10 ⁺⁰¹ ;1.80.10 ⁺⁰²]	2.32.10 ⁺⁰² [1.20.10 ⁺⁰² ;4.40.10 ⁺⁰²]
10	5.47.10 ⁺⁰¹ [2.81.10 ⁺⁰¹ ;8.20.10 ⁺⁰¹]	1.28.10 ⁺⁰² [8.91.10 ⁺⁰¹ ;1.83.10 ⁺⁰²]
20	4.60.10 ⁺⁰¹ [2.45.10 ⁺⁰¹ ;6.58.10 ⁺⁰¹]	1.07.10 ⁺⁰² [8.10.10 ⁺⁰¹ ;1.41.10 ⁺⁰²]
30	4.14.10 ⁺⁰¹ [2.23.10 ⁺⁰¹ ;5.81.10 ⁺⁰¹]	9.71.10 ⁺⁰¹ [7.64.10 ⁺⁰¹ ;1.21.10 ⁺⁰²]
60	3.48.10 ⁺⁰¹ [1.88.10 ⁺⁰¹ ;4.73.10 ⁺⁰¹]	8.11.10 ⁺⁰¹ [6.82.10 ⁺⁰¹ ;9.61.10 ⁺⁰¹]

Unités: temps en minutes, CL en ppm

Equation probit : $P = \Phi (2.66 \times \ln(\text{concentration}) + 0.694 \times \ln(\text{temps}) - 14.5)$

Tableau 5 : Résultats pour les Lapins

Temps	CL1% [IC95]	CL50% [IC95]
1	1.82.10 ⁺⁰² [7.37.10 ⁺⁰¹ ;3.28.10 ⁺⁰²]	4.98.10 ⁺⁰² [2.93.10 ⁺⁰² ;1.33.10 ⁺⁰³]
10	9.29.10 ⁺⁰¹ [4.05.10 ⁺⁰¹ ;1.36.10 ⁺⁰²]	2.54.10 ⁺⁰² [1.88.10 ⁺⁰² ;4.71.10 ⁺⁰²]
20	7.60.10 ⁺⁰¹ [3.29.10 ⁺⁰¹ ;1.06.10 ⁺⁰²]	2.07.10 ⁺⁰² [1.63.10 ⁺⁰² ;3.49.10 ⁺⁰²]
30	6.76.10 ⁺⁰¹ [2.90.10 ⁺⁰¹ ;9.37.10 ⁺⁰²]	1.84.10 ⁺⁰² [1.50.10 ⁺⁰² ;2.92.10 ⁺⁰²]
60	5.51.10 ⁺⁰¹ [2.33.10 ⁺⁰¹ ;7.49.10 ⁺⁰¹]	1.50.10 ⁺⁰² [1.26.10 ⁺⁰² ;2.18.10 ⁺⁰²]

Unités: temps en minutes, CL en ppm

Equation probit : $P = \Phi (2.25 \times \ln(\text{concentration}) + 0.667 \times \ln(\text{temps}) - 14.1)$

Tableau 6 : Résultats pour les Chiens

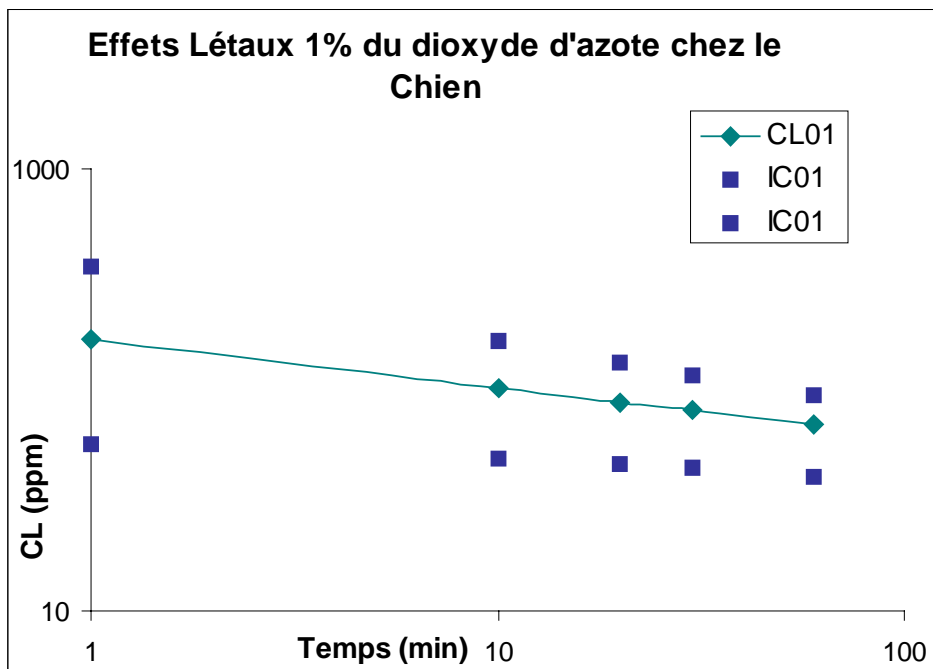
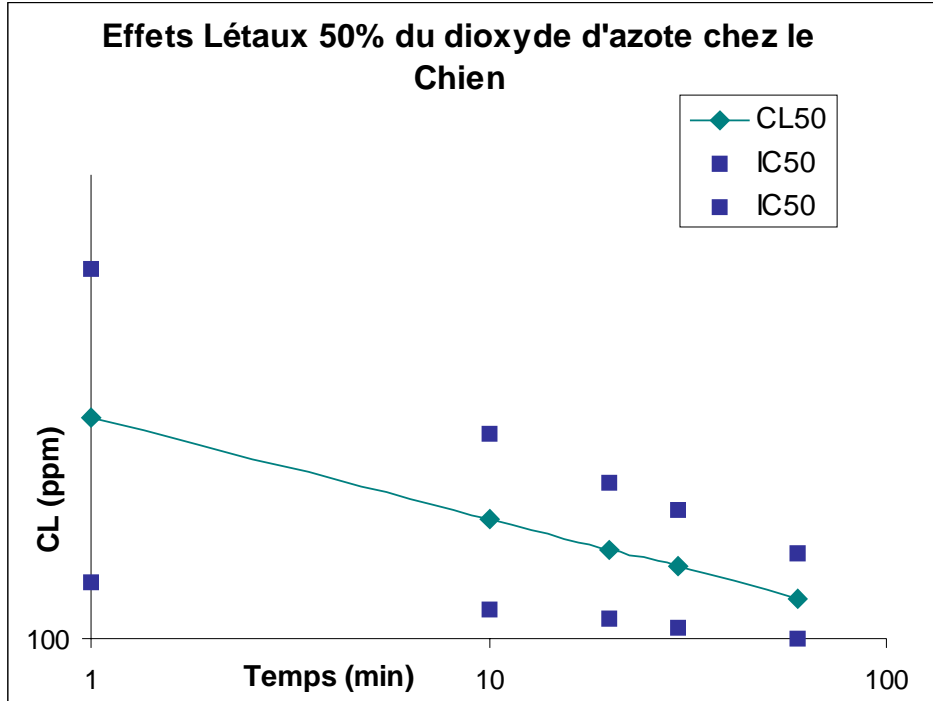
Temps	CL1% [IC95]	CL50% [IC95]
1	1.70.10 ⁺⁰² [5.72.10 ⁺⁰¹ ;3.64.10 ⁺⁰²]	3.00.10 ⁺⁰² [1.32.10 ⁺⁰² ;6.29.10 ⁺⁰²]
10	1.02.10 ⁺⁰² [4.88.10 ⁺⁰¹ ;1.67.10 ⁺⁰²]	1.81.10 ⁺⁰² [1.15.10 ⁺⁰² ;2.76.10 ⁺⁰²]
20	8.87.10 ⁺⁰¹ [4.59.10 ⁺⁰¹ ;1.33.10 ⁺⁰²]	1.56.10 ⁺⁰² [1.10.10 ⁺⁰² ;2.17.10 ⁺⁰²]
30	8.14.10 ⁺⁰¹ [4.39.10 ⁺⁰¹ ;1.16.10 ⁺⁰²]	1.43.10 ⁺⁰² [1.06.10 ⁺⁰² ;1.90.10 ⁺⁰²]
60	7.00.10 ⁺⁰¹ [4.05.10 ⁺⁰¹ ;9.44.10 ⁺⁰²]	1.22.10 ⁺⁰² [1.00.10 ⁺⁰² ;1.53.10 ⁺⁰²]

Unités: temps en minutes, CL en ppm

Equation probit : $P = \Phi (3.78 \times \ln(\text{concentration}) + 0.803 \times \ln(\text{temps}) - 21.4)$

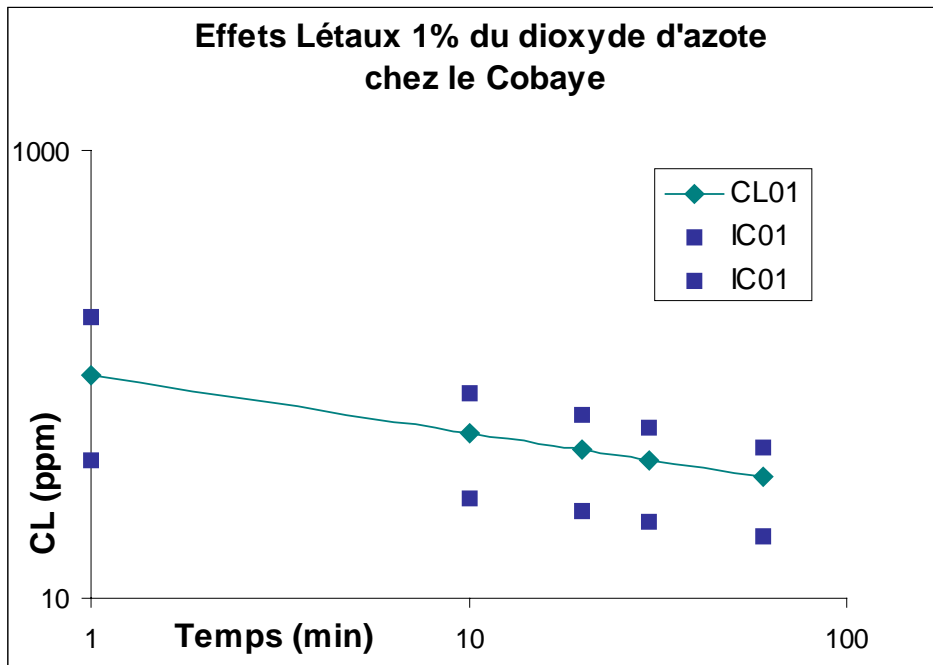
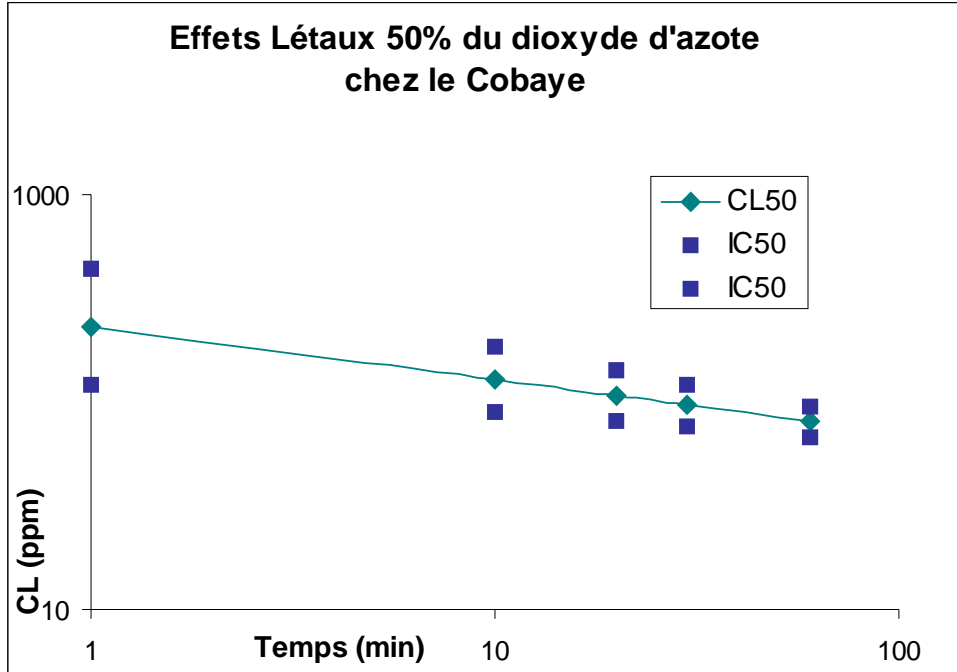
Graphes : Seuils des effets létaux déterminés pour le Dioxyde d'azote

Effets Létaux chez le Chien



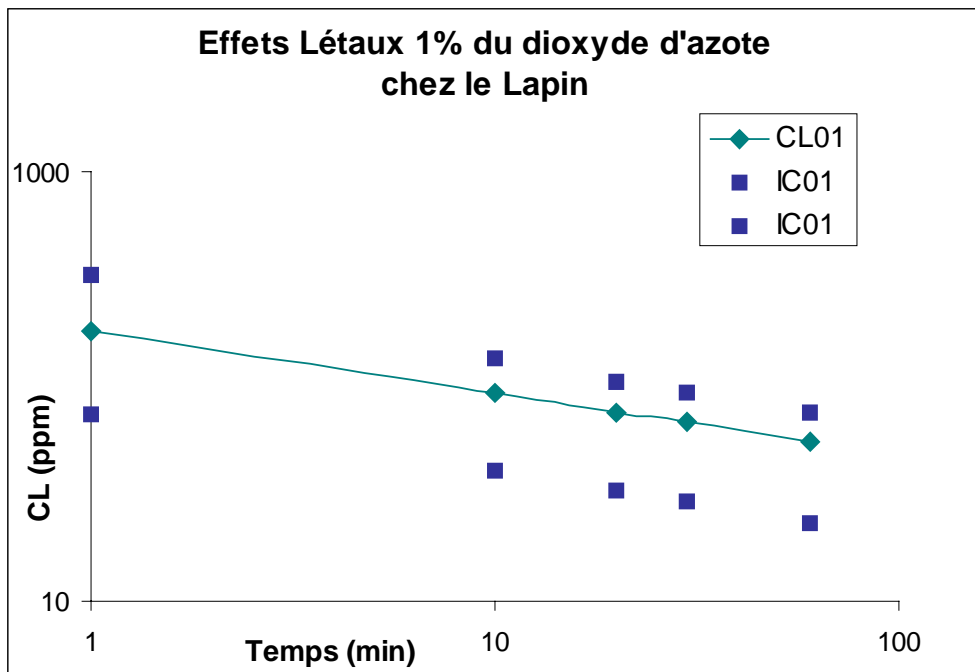
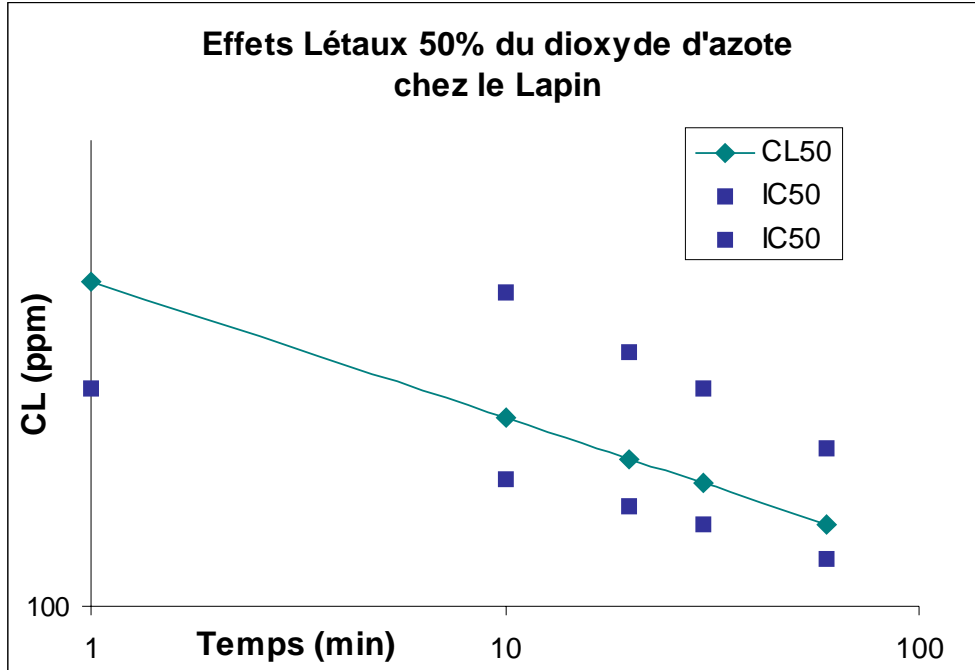
Graphes : Seuils des effets létaux déterminés pour le Dioxyde d'azote

Effets Létaux chez le Cobaye



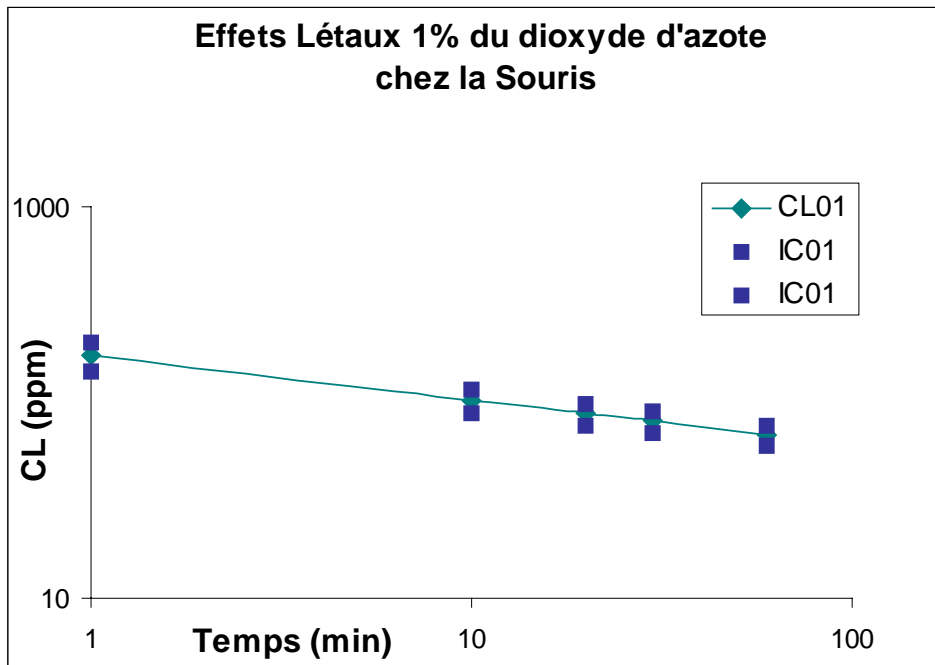
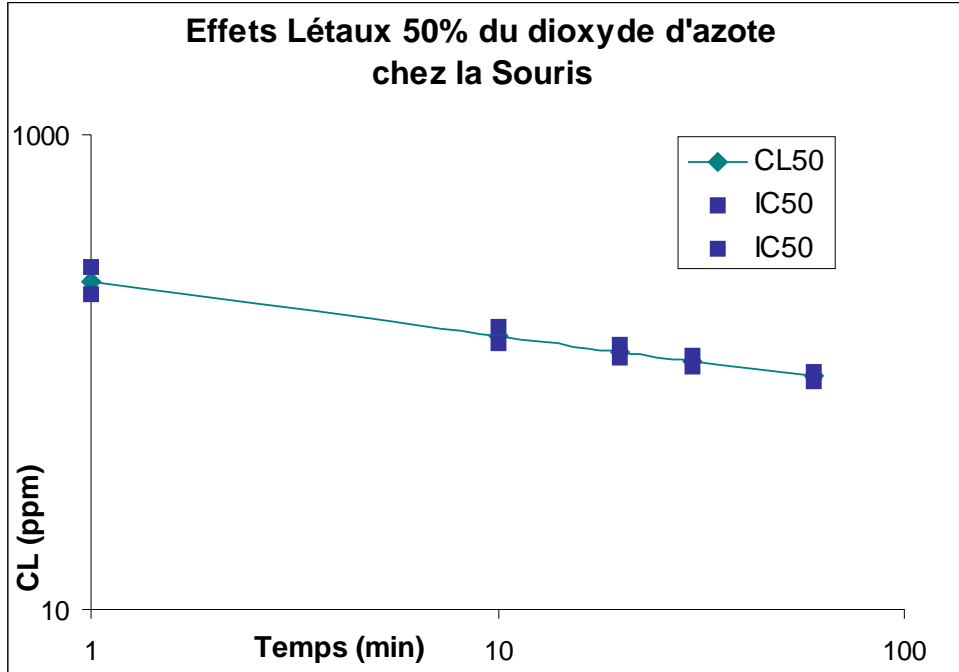
Graphes : Seuils des effets létaux déterminés pour le Dioxyde d'azote

Effets Létaux chez le Lapin



Graphes : Seuils des effets létaux déterminés pour le Dioxyde d'azote

Effets Létaux chez le Souris



Graphes : Seuils des effets létaux déterminés pour

Effets Létaux chez le Rat

