

RAPPORT D'ÉTUDE  
N°4DR191

28/01/2008

**Seuils de Toxicité aiguë  
Acroléine**

# Seuils de Toxicité aiguë - Acroléine

Expertise Toxicologique des Substances Chimiques (ETSC)  
Direction des Risques Chroniques (DRC)

Client : Ministère de l'Ecologie et du développement Durable - Ministère de la Santé, de la Famille et des Personnes Handicapées

Liste des personnes ayant participé à l'étude : Augustin BAULIG – Annick PICHARD

## **PREAMBULE**

Le présent rapport a été établi sur la base des informations fournies à l'INERIS, des données (scientifiques ou techniques) disponibles et objectives et de la réglementation en vigueur.

La responsabilité de l'INERIS ne pourra être engagée si les informations qui lui ont été communiquées sont incomplètes ou erronées.

Les avis, recommandations, préconisations ou équivalent qui seraient portés par l'INERIS dans le cadre des prestations qui lui sont confiées, peuvent aider à la prise de décision. Etant donné la mission qui incombe à l'INERIS de par son décret de création, l'INERIS n'intervient pas dans la prise de décision proprement dite. La responsabilité de l'INERIS ne peut donc se substituer à celle du décideur.

Le destinataire utilisera les résultats inclus dans le présent rapport intégralement ou sinon de manière objective. Son utilisation sous forme d'extraits ou de notes de synthèse sera faite sous la seule et entière responsabilité du destinataire. Il en est de même pour toute modification qui y serait apportée.

L'INERIS dégage toute responsabilité pour chaque utilisation du rapport en dehors de la destination de la prestation.

	<b>Rédaction</b>	<b>Vérification</b>	<b>Approbation</b>
<b>NOM</b>	A. BAULIG	F. BOIS	C. BOUDET
<b>Qualité</b>	Ingénieur	Délégué scientifique	Responsable d'unité
<b>Visa</b>			

## TABLE DES MATIERES

<b>1. RÉSUMÉ.....</b>	<b>4</b>
<b>2. INTRODUCTION .....</b>	<b>8</b>
<b>3. VALEURS OFFICIELLES EXISTANTES .....</b>	<b>11</b>
<b>4. DONNÉES DE TOXICITÉ CHEZ L'HOMME .....</b>	<b>13</b>
4.1 Données épidémiocliniques .....	13
4.2 Données expérimentales chez les Volontaires Sains.....	14
<b>5. DONNÉES DE TOXICITE CHEZ L'ANIMAL .....</b>	<b>16</b>
5.1 Etude des effets létaux.....	16
5.2 Etude des effets non létaux.....	19
<b>6. ANALYSE DES DONNÉES DE TOXICITÉ .....</b>	<b>25</b>
6.1 Analyse des données de mortalité .....	25
6.2 Analyse des effets non létaux .....	27
<b>7. REVUE DES RESULTATS.....</b>	<b>30</b>
7.1 Extrapolation des données expérimentales de l'animal à l'homme .....	30
7.2 Seuils d'effets létaux chez l'homme .....	30
7.3 Seuils des effets irréversibles.....	31
7.4 Seuils des effets réversibles.....	32
7.5 Seuil de perception .....	33
<b>8. CONCLUSION.....</b>	<b>34</b>
<b>9. RÉFÉRENCES .....</b>	<b>36</b>
<b>10. LISTE DES ANNEXES .....</b>	<b>38</b>

## 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 (MEEDDAT/PPR) 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 premiers effets létaux**" (SPEL), des "**seuils des effets létaux significatifs**" (SELS), des "**seuils des effets irréversibles**" (SEI), des "**seuils des effets réversibles**" et un seuil de perception (SP) pour l'acroléine.

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)	SPEL	
	mg/m <sup>3</sup>	ppm
1	1281	557
10	168	73
20	92	40
30	64	28
60	34	15
120	18	8
240	9	4
480	5	2

TEMPS (min)	SELS	
	mg/m <sup>3</sup>	ppm
1	1495	650
10	195	85
20	106	46
30	74	32
60	41	18
120	23	10
240	11	5
480	7	3

♦ **Seuils d'effets irréversibles**

La détermination de nouveaux seuils d'effets irréversibles n'a pas été possible à la vue des études disponibles. Ainsi les seuils ont été extrapolés à partir des SPEL en appliquant la méthodologie développée dans le cadre du projet de recherche européen ACUTEX.

TEMPS (min)	SEI	
	mg/m <sup>3</sup>	ppm
1	143	62
10	18	8
20	9	4
30	7	3
60	5	2
120	2	1
240	0,9	0,4
480	0,5	0,2

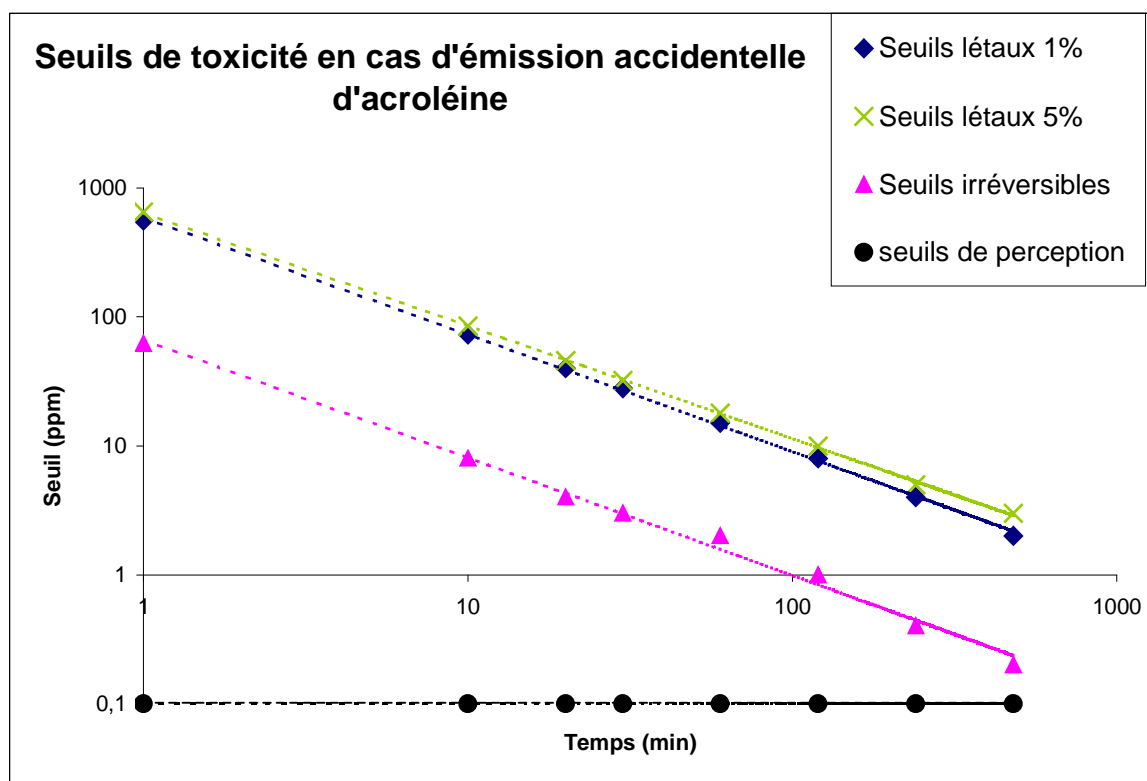
◆ **Seuils d'effets réversibles**

TEMPS (min)	SER	
	mg/m <sup>3</sup>	ppm
1	0,2	0,1
10	0,2	0,1
20	0,2	0,1
30	0,2	0,1
60	0,2	0,1
120	0,2	0,1
240	0,2	0,1
480	0,2	0,1

◆ **Seuil de perception**

Seuil olfactif : 0,1 ppm (0,2 mg/m<sup>3</sup>)

## Graphe récapitulatif des seuils de toxicité aiguë





## **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 et d'experts toxicologues du Ministère en charge de l'environnement 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 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) et 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, 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**" (SER) 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**" (SP) 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 en charge de l'environnement 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 l'acroléine.

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 révisée en décembre 2007 et consultable sur le site Internet de l'INERIS ([www.ineris.fr](http://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) - Pichard (INERIS) - Tissot (INERIS) - Hubert (MEEDAT/DPPR).

MM. Baert (CAP Rennes) - Baulig (INERIS) - Breton (CEB) - De Rooij et Berendts (SOLVAY) - Lafon (INRS) – Lévi (UIC-Rhodia) – Régnier (ARKEMA) - Vaissière (UFIP).

Les principales caractéristiques physico-chimiques de l'acroléine sont rassemblées dans le tableau ci-dessous :

Paramètre	Valeur/description	Référence
Nom chimique	Acroléine ou acryaldéhyde	INRS, 1999
Numéro CAS / EINECS	107-02-8 / 203-453-4	INRS, 1999
Formule chimique	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> O	INRS, 1999
Etat physique à 20°C	Liquide	INRS, 1999
Poids moléculaire	56,06 g.mol <sup>-1</sup>	INRS, 1999
Tension de vapeur	29,3 kPa à 20°C	INRS, 1999
Concentration à saturation	674 280 mg/m <sup>3</sup> 289 940 ppm	Calcul <sup>1</sup>
Densité vapeur (air = 1)	1,9	INRS, 1999
Solubilité	206-270 g/L à 20°C	CSB, 1999
Température d'ébullition/fusion	52,7°C/-87°C	INRS, 1999
Limite d'explosivité	2,8-31%	INRS, 1999
Conversion	1 mg/m <sup>3</sup> = 0,43 ppm 1 ppm = 2,30 mg/m <sup>3</sup> 20°C et 1013 hPa	INRS, 1999

<sup>1</sup> Calcul de la concentration de vapeur saturante à 20°C:  
 $C_{\text{vapeur saturante}} (\text{g.m}^{-3}) = (P * MM) / (R * T)$

L'acroléine est à température ordinaire un liquide incolore ou légèrement jaunâtre, d'odeur désagréable âcre et pénétrante, dont les vapeurs sont plus lourdes que l'air et modérément soluble dans l'eau.

C'est un réactif utilisé dans un grand nombre de réactions chimiques industrielles, notamment pour la fabrication de la méthionine, de l'acide acrylique et du glutaraldéhyde.

L'acroléine est un composé très réactif qui se polymérise rapidement (réaction exothermique pouvant devenir explosive). De plus, cette molécule réagit également violemment en présence d'eau où peut donner naissance à des peroxydes explosifs lors d'un stockage de longue durée. Facilement inflammable, l'acroléine peut provoquer des incendies par accumulation de charges électrostatiques (INRS, 1999).

### 3. VALEURS OFFICIELLES EXISTANTES

En **France**, l'émission accidentelle d'acroléine a déjà fait l'objet d'un examen (Document « *Fiches techniques/Courbes de toxicité aiguë par inhalation* » diffusé par le Ministère en charge 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 SEL (ppm)	Extrapolation SEI de la E.R.P.G.-3				
	18	9	6	3	2
Effets irréversibles SEI (ppm)	Extrapolation SEI de l'I.D.L.H. (1987)				
	15	7,5	5	3	1
Odeur	Valeur tirée de la banque de données de New Jersey (US)				
	5 ppm				

Par ailleurs, aux **Etats-Unis**, l'**A.I.H.A.** (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 odour.
- 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 l'acroléine, les valeurs des E.R.P.G. (2005) sont :

- **E.R.P.G.-1** : 0,23 mg/m<sup>3</sup> (0,1 ppm)
- **E.R.P.G.-2** : 1,1 mg/m<sup>3</sup> (0,5 ppm)
- **E.R.P.G.-3** : 6,9 mg/m<sup>3</sup> (3 ppm)

De plus, le comité **A.E.G.L.s** (Acute Exposure Guideline Levels) a publié au Federal Register de septembre 1998 les valeurs A.E.G.L.s de l'acroléine. Ces valeurs ont le statut de "proposed" A.E.G.L.s Les définitions de ces valeurs A.E.G.L.s (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 odour, 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.L.s pour l'acroléine sont les suivantes :

Durée (min)	10	30	60
A.E.G.L.-1 (ppm)	0,030	0,030	0,030
A.E.G.L.-2 (ppm)	0,44	0,18	0,10
A.E.G.L.-3 (ppm)	6,2	2,5	1,4

**Rappel** : Il existe également une valeur seuil I.D.L.H. (1986) 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 l'acroléine, cette valeur est de 2 ppm (valeur révisée inchangée en 1996).

L'acroléine n'est pas classée cancérigène par l'Union Européenne. Pour l'IARC, l'acroléine a été classée dans le groupe 3 (ne peut être classée pour sa cancérigénicité pour l'homme).

**Classement de l'acroléine (annexe I de la directive 67/548/CEE 19<sup>ème</sup> ATP)**

F, T+ et N

R11 : facilement inflammable.

R24/25 : toxique par contact avec la peau et par ingestion.

R26 : très toxique par inhalation.

R34 : provoque des brûlures.

R50: très toxique pour les organismes aquatiques.

## **4. DONNEES DE TOXICITE CHEZ L'HOMME**

### **4.1 DONNEES EPIDEMIOCLINIQUES**

L'acroléine est un puissant irritant respiratoire et muqueux et un fort irritant cutané et oculaire. Les effets pathologiques de l'acroléine sont limités aux sites d'exposition en raison de la forte réactivité de la molécule avec les composants cellulaires, notamment les groupes thiols libres. Ainsi, les modifications histopathologiques se situent dans la cavité nasale avec un gradient de sévérité antéro-postérieur : dégénérescence de l'épithélium respiratoire (perte de cils, exfoliation, nécrose, sécrétions muqueuses et vacuolisation) et modification inflammatoire aiguë avec infiltration de leucocytes dans la muqueuse, hyperhémie, hémorragies et œdème intercellulaires (INRS, 1999).

Les études épidémiologiques relatives à l'action de l'acroléine chez l'homme sont anecdotiques et les résultats sont résumés brièvement ici.

#### **◆ Champeix et al. (1966), Champeix et Catalina (1967)**

Un employé de 39 ans qui travaillait dans une usine chimique a été accidentellement exposé à des vapeurs d'acroléine (concentration inconnue). Vingt heures après l'exposition, cet homme a présenté un syndrome pulmonaire suraigu avec une dyspnée très marquée, une oppression thoracique, une cyanose et une toux accompagnée d'expectorations spumeuses.

A son arrivée à l'hôpital, il était fiévreux et très pâle et présentait une respiration très accélérée ainsi que des expectorations légèrement rosées.

Après 4 jours de traitement, le patient était apyrétique mais 18 mois après l'accident il subsistait encore des séquelles radiologiques et une insuffisance respiratoire débutante.

Sur la base de leurs observations personnelles, Champeix et Catalina (1967) ont dressé un tableau des réponses physiopathologiques probables chez l'homme lors d'une exposition aiguë à l'acroléine. Ces valeurs sont rapportées dans le tableau ci-dessous :

<b>Concentrations atmosphériques (ppm)</b>	<b>Durée de l'exposition</b>	<b>Réponses humaines probables</b>
153	10 minutes	Atteinte pulmonaire fatale
21,8	Immédiatement	Intolérable
5,5	20 secondes	Irritation oculo-nasale devenant intolérable après 1 minute
3	Immédiatement	Légère irritation oculo-nasale
1	2-3 minutes	Légère irritation oculo-nasale intolérable après 5 minutes

## 4.2 DONNEES EXPERIMENTALES CHEZ LES VOLONTAIRES SAINS

### ◆ Sim and Pattle (1957)

Vingt quatre hommes ont été exposés par groupe de 12 soit à 1,88 mg/m<sup>3</sup> (0,805 ppm) d'acroléine pendant 10 minutes, soit à 2,80 mg/m<sup>3</sup> (1,22 ppm) pendant 5 minutes.

Dans chaque cas, l'exposition a été à peine supportable et a déclenché des irritations oculaires en 20 secondes pour l'exposition à 0,805 ppm et en 5 secondes pour celle à 1,22 ppm d'acroléine.

### ◆ Darley et al. (1960)

Trente six étudiants (26 hommes et 10 femmes) ont été exposés pendant 5 minutes à 3 concentrations d'acroléine : 0,06 ppm, 1,3-1,6 ppm et 2,0-2,3 ppm.

Au cours de chaque exposition, les étudiants ont évalué toutes les 30 secondes l'intensité de leurs irritations oculaires selon 3 critères subjectifs (nulle, moyenne et forte). Pour la réalisation des analyses statistiques, chaque critère a été associé à un nombre : nulle = 0, moyenne = 1 et forte = 2. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous et mettent en évidence une augmentation de l'index d'irritation oculaire en fonction de la concentration d'acroléine.

Concentration (ppm)	Index d'irritation oculaire
0,06	0,471
1,3-1,6	1,182
2,0-2,3	1,476

### ◆ Leonardos et al. (1969)

Quatre volontaires sains, entraînés à la reconnaissance olfactive, ont été exposés à 5 concentrations croissantes d'acroléine en chambre d'inhalation (concentrations non communiquées dans l'étude). L'exposition à chaque concentration d'acroléine correspond à une expérience indépendante. Au cours de chaque exposition, les volontaires qui ne sont pas informés de la concentration d'acroléine utilisée, doivent indiquer s'ils détectent une odeur. Les expériences sont séparées de 25 minutes de façon à ne pas entraîner de fatigue olfactive chez les volontaires.

Les auteurs ont ainsi déterminé un seuil de perception olfactif pour l'acroléine, c'est-à-dire la valeur la plus faible pour laquelle l'ensemble des 4 volontaires ont été capables de percevoir une sensation olfactive. Cette valeur est de 0,21 ppm.

◆ **Weber-Tschopp et al. (1977)**

Afin d'étudier les effets irritants de l'acroléine, des volontaires sains ont été exposés en chambre d'inhalation à des concentrations d'acroléine allant jusqu'à 0,60 ppm.

Expérience 1 : 53 étudiants (31 hommes et 22 femmes) ont été séparés en groupe de 3. Chaque volontaire étant son propre témoin. L'expérience a duré 40 minutes. Pendant les 35 premières minutes, la concentration d'acroléine a augmenté régulièrement jusqu'à atteindre 0,60 ppm, concentration qui a été maintenue jusqu'à la fin de l'expérience. Chaque volontaire a rempli un questionnaire toutes les 5 minutes.

Immédiatement après le recueil d'informations, la vitesse de clignement des yeux a été mesurée pour deux des trois volontaires alors que la fréquence ventilatoire du troisième a été enregistrée pendant toute la durée de l'expérience.

Expérience 2 : 42 étudiants (17 hommes et 25 femmes) ont été séparés en groupe de 4 et exposés 5 fois pendant 1,5 minutes à différentes concentrations d'acroléine (0,15, 0,30, 0,45 et 0,60 ppm). Entre chaque exposition, les volontaires ont été placés pendant 8 minutes dans une chambre bien ventilée et ils ont été soumis à un questionnaire.

Expérience 3 : 46 étudiants (21 hommes et 25 femmes) ont été exposés par groupe de 3 à 0,3 ppm d'acroléine pendant 60 minutes. La vitesse de clignement des yeux, la fréquence respiratoire et les sensations d'irritation ont été déterminées immédiatement après l'exposition.

Les résultats compilés de cette étude ont mis en évidence que l'apparition et l'intensité des effets cliniques dépend de la concentration d'acroléine. Ces effets sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Gênes	0,09 ppm
Irritations des yeux	0,09 ppm
Irritations du nez	0,15 ppm
Doublement de la fréquence de clignement des yeux	0,26 ppm
Diminution de 10% de la fréquence respiratoire	0,3 ppm
Irritations de la gorge	0,43 ppm
Diminution de 25% de la fréquence respiratoire	0,6 ppm



## **5. DONNEES DE TOXICITE CHEZ L'ANIMAL**

### **5.1 ETUDE DES EFFETS LETAUX**

Le détail des conditions expérimentales est donné en Annexe (c.f. §9., Tableau 1). La cotation des études selon les critères de classification de Klimisch est reportée à la suite de la référence bibliographique (cotation "x") associée à une brève justification de la valeur de l'indice retenue.

#### **5.1.1 CHEZ LES RONGEURS : RAT, SOURIS ET COBAYES**

La plupart des études de détermination de la toxicité aiguë (CL<sub>50</sub>) par inhalation sont effectuées sur des rongeurs. Les espèces généralement utilisées sont le rat et la souris.

Les principaux résultats recueillis sont reportés ci-après :

##### **◆ Skog (1950) – cotation 2**

*Les conditions expérimentales sont bien décrites. L'analyse de la concentration d'acroléine n'est pas parfaitement satisfaisante. L'étude ne présente pas les données individuelles de mortalité. L'auteur donne une CL<sub>50</sub>. Par contre, l'étude rapporte des données anatomo-pathologiques.*

Quarante-huit rats ont été exposés par groupe de 8 en corps entier à des concentrations d'acroléine comprises entre 0,1 et 0,7 mg/L d'air (43 et 301 ppm) pendant 30 minutes. La mortalité des animaux a été suivie pendant 3 semaines. Les premiers et les derniers animaux sont morts respectivement 6 à 24 heures et 4 jours après l'exposition. L'auteur a ainsi déterminé une dose létale 50% par inhalation :

- CL<sub>50</sub> : 0,3 mg/L (129 ppm) pour 30 minutes.

L'examen anatomo-pathologique a mis en évidence un œdème, une hyperhémie et des hémorragies pulmonaires ainsi qu'une dégénérescence de l'épithélium bronchique.

##### **◆ Cullumbine et Pattle (1956) – cotation 3**

*Cette étude ne donne aucune description des conditions expérimentales. Elle ne présente pas non plus de données individuelles de mortalité ni d'analyse anatomo-pathologique. Seules les concentrations induisant la mort de 50% des animaux exposés sont présentées brièvement.*

Des souris et des rats ont été exposés à 24,4 mg/m<sup>3</sup> (10,5 ppm) d'acroléine pendant 6 heures. Cette concentration entraîne la mort d'environ 50% des animaux de chaque espèce.

Les analyses post-mortem ont mis en évidence une trachéo-bronchite sévère associée à un œdème, une consolidation, une congestion et un emphysème pulmonaire.

- CL<sub>50</sub> : 10,5 ppm pour 360 minutes (rat)
- CL<sub>50</sub> : 10,5 ppm pour 360 minutes (souris)

#### ◆ Catalina et al. (1966) – cotation 2

*Cette étude a été réalisée avant l'apparition des BPL. Elle donne très peu de détails sur les conditions expérimentales. Le système d'exposition est mal décrit et celle du suivi des concentrations d'acroléine est inexistante. L'étude ne donne pas non plus les données individuelles de mortalité et se contente de rapporter la CL<sub>50</sub>. Par contre, les résultats de l'analyse anatomo-pathologique sont très complets et détaillés.*

Deux cent dix rats wistar mâles ont été exposés en corps entier à différentes concentrations d'acroléine pendant 10 minutes. Les auteurs ont ainsi déterminé les CL<sub>100</sub> et CL<sub>50</sub> :

- CL<sub>100</sub> : 430 ppm pour 10 minutes
- CL<sub>50</sub> : 322 ppm pour 10 minutes

Les analyses histopathologiques montrent que l'acroléine a une action immédiate et intense sur les muqueuses respiratoires, est responsable de lésions sévères aux voies trachéo-bronchiques (abrasion et parfois même destruction de l'épithélium, les restes de la muqueuse détruite obstruant très rapidement les conduits trachéo-bronchiques) et d'atteintes plus modérées et différentes sur le parenchyme pulmonaire (irritations).

L'acroléine est également la cause de troubles notables de la ventilation en provoquant un œdème important au niveau de la sous-muqueuse et des destructions au niveau de la muqueuse des voies aériennes supérieures (larynx, trachée, bronches principales) dont les lumières s'obstruent tout d'abord de fragments de muqueuse décollée ou détruite et ensuite de fausses membranes.

Cette substance entraîne aussi des troubles importants de l'hématose puisqu'elle agresse le poumon en créant un état congestif ou hémorragique intense.

L'ensemble de ces lésions conduisent à une mort précoce, avant le 4<sup>e</sup> jour, dans un tableau asphyxique.

#### ◆ Philippin et al. (1970) – cotation 2

*Cette étude n'a pas été faite sous BPL. Cependant, les conditions expérimentales sont très bien décrites avec de nombreux détails y compris pour le système d'analyse des concentrations d'acroléine dans la chambre d'exposition. L'étude présente les données individuelles de mortalité associées au calcul de la CL<sub>50</sub>. Par contre l'étude ne donne aucun résultat d'anatomo-pathologie.*

Cent huit souris albinos mâles ont été exposées en corps entier à 31, 60, 80 et 119 ppm d'acroléine pendant 6 heures. La mortalité des animaux a été observée pendant 24 heures après le début de l'exposition.

Les données individuelles de mortalité sont reportées en Annexe (c.f. §9., tableau 1). Les résultats mettent en évidence que l'accroissement de la mortalité est corrélée avec l'augmentation des concentrations d'acroléine. Aucune souris ne meurt lors de l'exposition à 31 ppm, 40% meurent à 61 ppm, 75% à 80 ppm et 100% à 119 ppm. Les auteurs ont déterminé une CL<sub>50</sub> :

- CL<sub>50</sub> : 66 ppm pour 360 minutes

#### ◆ **Kruyssen (1971) – cotation 2**

*Cette étude a été réalisée avant la création des BPL. Le détail des conditions expérimentales existe mais reste succinct en particulier en ce qui concerne l'appareillage d'exposition des animaux. L'étude présente les données individuelles de mortalité associées au calcul de la CL<sub>50</sub>. Aucun résultat d'anatomo-pathologie n'est fourni.*

Dix hamsters (Syrian Golden, 5 de chaque sexe) ont été exposés en corps entier à 11,2, 23,3, 30 et 30,4 ppm (25, 52, 67 et 68 mg/m<sup>3</sup> d'acroléine pendant 4 heures. La mortalité des animaux a été observée 14 jours après l'exposition.

Les données individuelles de mortalité sont reportées en Annexe (c.f. §9., tableau 1). La CL<sub>50</sub> déterminée par l'auteur dans l'étude est rapportée ci-dessous :

- CL<sub>50</sub> : 25,4 ppm pour 240 minutes

#### ◆ **Ballantyne et al. (1989) – cotation 2**

*Cette étude n'a pas été faite sous BPL. La description des conditions expérimentale est correcte. L'étude présente les données individuelles de mortalité associées au calcul de la CL<sub>50</sub>. De plus, les auteurs ont également réalisé des examens anatomo-pathologiques.*

Dix rats Sprague-Dawley (5 de chaque sexe) ont été exposés en corps entier à 14, 22, 24, 31 et 81 ppm d'acroléine pendant 1 heure et 4,8, 7, 9,1 et 12,1 ppm pendant 4 heures. La mortalité des animaux a été observée 14 jours après l'exposition.

Les données individuelles de mortalité sont reportées en Annexe (c.f. §9., tableau 1). Les CL<sub>50</sub> déterminées par les auteurs dans l'étude sont présentées ci-dessous :

- CL<sub>50</sub> : 26 ppm pour 60 minutes
- CL<sub>50</sub> : 8,3 ppm pour 240 minutes

L'examen anatomo-pathologique a mis en évidence des nodules fibreux dans les régions périnasale et péri-orale, des marbrures au niveau des poumons ainsi que la présence de liquide dans la trachée et la cavité thoracique. Les analyses histologiques ont quant à elles révélées des signes de congestion et d'hémorragies intra-alvéolaires, des dépôts de fibrine ainsi qu'une nécrose et une exfoliation de l'épithélium bronchique.

### 5.1.2 CHEZ LE LAPIN

#### ◆ **Cullumbine et Pattle (1956) – cotation 3**

*Cette étude a été réalisée avant la création des BPL. Elle ne donne aucune description des conditions expérimentales. Elle ne présente pas non plus de données individuelles de mortalité ni d'analyse anatomo-pathologique. Seules les concentrations induisant la mort de 50% des animaux exposés sont présentées brièvement.*

Des lapins ont été exposés à 24,4 mg/m<sup>3</sup> (10,5 ppm) d'acroléine pendant 6 heures. Cette concentration entraîne la mort d'environ 50% des animaux (CL<sub>50</sub>).

Les analyses réalisées post-mortem ont mis en évidence une sévère trachéo-bronchite associée à un œdème, une consolidation, une congestion et un emphysème pulmonaire.

- CL<sub>50</sub> : 10,5 ppm pour 360 minutes

#### ◆ **Beeley et al. (1986) – cotation 2**

*Cette étude n'a pas été faite sous BPL. La description des conditions expérimentales est bien détaillée bien qu'un schéma du système d'exposition aurait pu éclairer le lecteur. L'étude histologique a été particulièrement bien conduite. Les résultats sont clairement présentés.*

Trente-six lapines (New Zealand albinos) ont été exposés en corps entier, par groupe de dix-huit, à 375 et 489 ppm d'acroléine pendant 15 minutes. La mortalité des lapines est notée pendant 3 jours. A l'issue de cette période, les lapines ayant survécu sont euthanasiées. Une analyse histologique est alors réalisée chez l'ensemble du lot de lapines.

L'exposition des lapines à 376 et 489 ppm d'acroléine conduit au décès de 5 et 8 animaux respectivement.

Les analyses histologiques ont mis en évidence des changements très variables chez les animaux exposés : œdème, îlots nécrotiques, larges plages de nécrose hémorragique avec perte d'architecture, destruction de l'épithélium et congestion vasculaire.

### **5.1.3 CHEZ LE CHIEN**

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

### **5.1.4 CHEZ LES PRIMATES NON HUMAINS**

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

## **5.2 ETUDE DES EFFETS NON LETAUX**

### **5.2.1 CHEZ LES RONGEURS : RAT, SOURIS ET COBAYES**

#### ◆ **Murphy et al. (1963) – cotation 2**

*Cette étude a été réalisée avant la création des BPL. La description des conditions expérimentales est succincte et peu claire. Les résultats des expériences sont donnés sous forme de graphique sans les données individuelles.*

Des cobayes mâles ont été exposés à des vapeurs d'acroléine à l'aide de masques d'inhalation.

L'exposition de 10 cobayes à 0,6 ppm d'acroléine pendant 2 heures a entraîné une augmentation de la résistance des voies aériennes et une diminution de la fréquence respiratoire. De plus, ces effets sont d'autant plus importants que la concentration d'acroléine est élevée et ils sont réversibles après l'arrêt de l'exposition.

#### ◆ **Davis et al. (1967) – cotation 2**

*Cette étude a été réalisée avant la création des BPL. La description des conditions expérimentales est bien détaillée et illustrée par un schéma du système. Par contre les auteurs donnent très peu de détails sur les animaux utilisés (espèce, sexe). Pas de données individuelles.*

Six cobayes ont été exposés en corps entier à 17 ppm d'acroléine pendant 60 minutes.

Les résultats ont mis en évidence une diminution de la fréquence respiratoire et du volume minute ainsi qu'une augmentation de la résistance des voies aériennes et du volume courant.

#### ◆ **Dahlgren et Dalen (1972) – cotation 3**

*Cette étude a été réalisée avant la création des BPL. Le détail des conditions expérimentales, malgré les références, est très sommaire et incomplet.*

Douze cobayes femelles (espèce inconnue) ont été exposées à un aérosol d'acroléine à 5% pendant 5 minutes. Soixante douze heures après l'exposition, les cobayes sont euthanasiés et les trachées sont immédiatement prélevées et préparées pour une analyse histologique.

Cette étude a mis en évidence des degrés d'atteinte divers de l'épithélium. Les animaux les moins affectés présentent des changements de la forme des cellules associés à des altérations morphologiques des organites cellulaires. On observe également l'apparition de vacuoles cytoplasmiques, d'un œdème intercellulaire et l'infiltration de cellules inflammatoires. Les cellules caliciformes sont pratiquement vides et les cellules ciliées sont dénudées ou possèdent encore quelques cils dégénérés.

Chez les animaux plus sévèrement atteints, on note une exfoliation totale des cellules caliciformes et des cellules ciliées. De plus, de nombreuses phagocytes avec des vacuoles caractéristiques sont localisées à la base de la membrane.

#### ◆ **Watanabe et Aviado (1974) – cotation 3**

*Cette étude a été réalisée avant la création des BPL. La description des conditions expérimentales est très succincte. Les résultats des expériences sont donnés sous forme de graphique représentés à partir de la moyenne des valeurs individuelles, ces dernières n'étant pas rapportées dans l'étude.*

Des souris Swiss (5 par expérience) ont été exposées par une sonde intratrachéale à 129 et 258 ppm d'acroléine pendant 5 minutes.

Les résultats ont mis en évidence une diminution de la fréquence respiratoire, de la compliance pulmonaire et du volume courant ainsi qu'une augmentation de la résistance des voies aériennes.

#### ◆ **Kane et al. (1977) ; Kane et al. (1979) – cotation 2**

*Ces études ont été réalisées avant l'apparition des BPL. Cependant la description des conditions expérimentales est très détaillée et illustrée avec un schéma du système d'exposition. Il manque cependant des détails concernant les animaux (conditions d'élevage).*

Des groupes de quatre souris mâles Swiss-Webster ont été exposées en corps entier à différentes concentrations d'acroléine comprises entre 0,2 et 10 ppm pendant 10 minutes.

Les résultats ont mis en évidence une diminution de la fréquence respiratoire et les auteurs ont calculé une valeur de RD<sub>50</sub> :

- RD<sub>50</sub> : 1,7 ppm IC95[0,77 – 3,6] pour 10 minutes

L'année suivante, une autre étude a été réalisée par le même groupe. Quatre souris mâles Swiss-Webster ont été exposées en corps entier à différentes concentrations d'acroléine comprises entre 0,1 et 100 ppm pendant 10 minutes. Les résultats ont mis en évidence une diminution de la fréquence respiratoire et les auteurs ont calculé une valeur de RD<sub>50</sub> :

- RD<sub>50</sub> : 1,68 ppm IC95[1,26 – 2,24] pour 10 minutes

#### ◆ Kilburn et McKenzie (1978) – cotation 2

*Cette étude a été réalisée avant la création des BPL. La description des conditions expérimentales est bien détaillée et illustrée par un schéma du système d'exposition. Par contre les auteurs donnent très peu de détails sur la mesure et le suivi des concentrations d'acroléine dans la chambre d'exposition.*

Des cobayes (Syrian Golden mâles et femelles) ont été exposés par lot de 6, en corps entier, à 6 ppm d'acroléine pendant 4 heures. Les résultats de cette étude ont mis en évidence l'induction d'une cytotoxicité des cellules des voies respiratoires ainsi qu'une exfoliation de l'épithélium.

#### ◆ Nielsen et al. (1984) – cotation 2

*Cette étude a été réalisée après la création des BPL. La description des conditions expérimentales est très complète et bien détaillée. Les résultats sont clairs bien que les données individuelles ne soient pas présentes.*

Quatre souris mâles CF-1 ont été exposées en corps entier à des concentrations d'acroléine comprises entre 0,5 et 10 ppm pendant 10 minutes.

Les résultats ont mis en évidence une diminution de la fréquence respiratoire et les auteurs ont calculé une valeur de RD<sub>50</sub> :

- RD<sub>50</sub> : 2,9 ppm IC95[2,3 – 3,6] pour 10 minutes

#### ◆ Steinhagen et Barrow (1984) – cotation 2

*Cette étude a été réalisée après la création des BPL. La description des conditions expérimentales est très complète et bien détaillée. Les résultats sont clairs bien que les données individuelles ne soient pas présentes.*

Des souris B6C3F1 ont été exposées par voie oro-nasale à 0,08, 0,35, 2,88 et 8,11 ppm d'acroléine pendant 10 minutes. De la même façon, des souris Swiss-Webster ont été exposées à 0,04, 0,22, 1,49 et 4,92 ppm de la même substance.

Les résultats ont mis en évidence une diminution réversible de la fréquence respiratoire. Les auteurs ont ainsi pu calculer une RD<sub>50</sub> :

- RD<sub>50</sub> : 1,41 ppm IC95[1,16 - 1,73] pour 10 minutes (B6C3F1)
- RD<sub>50</sub> : 1,03 ppm IC95[0,70 – 1,52] pour 10 minutes (Swiss-Webster)

#### ◆ **Babiuk et al. (1985) – cotation 2**

*La description des conditions expérimentales est très complète mais parfois difficilement intelligible. Les résultats sont clairs bien que les données individuelles ne soient pas présentes.*

Une étude de la même équipe a été réalisée sur des rats mâles Fisher-344. Les animaux sont exposés par voie oro-nasale à des concentrations d'acroléine comprises entre 0,5 et 10 ppm pendant 6 heures.

La sensation d'irritation a été déterminée chez les rats en mesurant la diminution de la fréquence respiratoire 50% (RD<sub>50</sub>).

- RD<sub>50</sub> : 6 ppm pour 360 minutes

#### ◆ **Lee et al. (1992) – cotation 2**

*La description des conditions expérimentales est très complète et bien détaillée. Cependant, un schéma du système d'exposition aurait été le bienvenu. Les résultats sont clairs bien que les données individuelles ne soient pas présentes.*

Trente jeunes rats Sprague-Dawley (mâles et femelles) ont été exposés par lot de 10, en corps entier à 200, 350 et 600 ppm d'acroléine. Les effets sur l'appareil respiratoire ont été observés immédiatement après le début de l'exposition.

L'exposition des rats à 200 ppm d'acroléine n'induit pas de changement des fonctions respiratoires. Par contre, l'inhalation de 600 ppm entraîne une inhibition réversible de la respiration.

L'exposition à 350 et 600 ppm induit une augmentation de la résistance des voies aériennes de 26±11% et 44±5% respectivement. Enfin, l'exposition à la concentration d'acroléine la plus élevée entraîne une réduction du volume minute de 64±6%.

#### ◆ **Casee et al. (1996) – cotation 2**

*La description des conditions expérimentales est bien détaillée bien qu'un schéma du système d'exposition aurait pu éclairer le lecteur. L'étude histologique a été particulièrement bien conduite.*

Des rats Wistar albinos mâles ont été exposés par voie oro-nasale à 0,25, 0,67 et 1,40 ppm d'acroléine pendant 6 heures. Immédiatement après l'exposition, les rats sont euthanasiés et une analyse histologique ainsi qu'un test de prolifération cellulaire sont réalisés.

Aucune modification histologique ni prolifération cellulaire n'a été mise en évidence à ces concentrations.

### **5.2.2 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.).

### 5.2.3 CHEZ LE CHIEN

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.).

### 5.2.4 CHEZ LES PRIMATES NON HUMAINS

#### ◆ Kaplan (1987) – cotation 2-3

*Cette étude a été réalisée après la création des BPL. Cependant la description des conditions expérimentales est très insuffisante, notamment concernant les animaux, la génération de l'atmosphère d'acroléine et le suivi de sa concentration dans la chambre d'exposition.*

Des jeunes babouins ont été exposés à des concentrations d'acroléine de 12 à 2780 ppm pendant 5 minutes. A l'issue de l'exposition, les auteurs ont testé la réaction de fuite des animaux à l'aide d'un test spécifique. Si les animaux sont capables d'actionner le mécanisme d'ouverture de la cage en moins de 20 secondes, le test a été considéré comme réussi. Dans le cas contraire, c'est un échec.

Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Concentration d'acroléine (ppm)	Résultat du test	Temps de fuite avant exposition (s)*	temps de fuite après exposition (s)**
12	Echappement	6,3±2,4	4,9
25	Echappement	5,0±0,4	6,5
95	Echec	-	-
100	Echappement	5,9±1,2	5,8
250	Echappement	5,8±1,4	5,2
505	Echappement	6,8±1,8	5,1
1025	Echappement	5,9±1,7	4,0
2780	Echappement	6,6±1,7	4,3

\* : valeur avant exposition exprimée comme la moyenne ±SD (N=10-12)

\*\* : valeur après exposition (N=1)

Dans 8 expériences sur 9, le résultat du test de fuite s'est révélé positif. Le seul test ayant échoué a été attribué à un dysfonctionnement de l'appareillage de la cage et n'est donc pas considéré comme significatif.

De plus, bien que les différences entre les temps d'échappement avant et après exposition ne soient pas statistiquement significatives, les temps d'échappement semblent légèrement plus faibles après exposition des animaux à l'acroléine dans la plupart des expériences.



Enfin, les deux animaux exposés aux plus fortes doses (1025 et 2780 ppm) ont développé un œdème pulmonaire respectivement 24 heures et 1,5 heures après leur sortie de la cage.

## 6. ANALYSE DES DONNEES DE TOXICITE

### 6.1 ANALYSE DES DONNEES DE MORTALITE

#### 6.1.1 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 :

♦ **Ballantyne *et al.* (1989) - cotation 2**

Les résultats de cette étude sont présentés dans le tableau en annexe (§10. Tableau 1).

Les études de Kruysse (1971), Philipin (1970) et Beeley (1989) n'ont pas été utilisées pour l'analyse probit en raison d'un manque de données toxicologiques.

#### 6.1.2 ANALYSE QUANTITATIVE

Cette analyse quantitative a été effectuée à partir de l'étude retenue en § 6.1.1.

Le modèle statistique employé est le modèle « Log-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 :

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

Où  $p$  est la probabilité qu'un individu choisi au hasard et exposé à une concentration  $C$  de substance pendant un temps  $\tau$  présente une réponse (mortalité), en supposant une distribution lognormale des tolérances, c'est-à-dire que le logarithme des tolérances est distribué selon une loi Normale.

$F$  est la fonction de distribution cumulée de la loi Normale. Elle s'écrit :

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

Nous pouvons alors écrire :

$$CL1\% = \exp(\mu - 2,33\sigma - m\log(\tau))$$

$$CL5\% = \exp(\mu - 1,645\sigma - m\log(\tau))$$

$$CL50\% = \exp(\mu - m\log(\tau))$$

L'analyse a également été effectuée à l'aide du modèle PKPD. Ce modèle, contrairement au modèle log-probit classique, tient compte partiellement de la physiologie respiratoire et est basé sur une dose toxique inhalée. La description de ce modèle est disponible sur le site partenaire de l'INERIS suivant : <http://toxi.ineris.fr/>

Pour faire fonctionner ces modèles mathématiques, 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  $C_i$
- $\tau_i$  : le temps d'exposition du groupe  $i$ .

Le calcul des  $CL_{50}$ ,  $CL_{05}$  et  $CL_{01}$  en fonction du temps d'exposition, est basé sur l'estimation des paramètres de régression ( $m$ ,  $\mu$  et  $\sigma$ ) obtenus par une analyse bayésienne. Les intervalles de confiance sont déterminés sous l'hypothèse d'une fonction de vraisemblance binomiale [FINNEY (1971)]. Le tableau 2 en Annexe (§ 10. Tableau 2) donne les valeurs obtenues.

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

Enfin, la valeur  $n$  de la relation de Haber ( $C^n \cdot t = \text{constante}$ ) a également été calculée à partir des données analysées et retenues.

Les équations probit établies et la valeur  $n$  correspondante sont les suivantes :

- **Probit standard**       $Y = 4,45 \ln(\text{concentration}) + 3,92 \ln(\text{temps}) - 30,45$   
                                  $n = 4,45/3,92 = 1,13$       IC95 [1,52 – 0,76]
- **Probit PKPD**             $Y = 4,65 \ln(\text{concentration}) + 4,08 \ln(\text{temps}) - 27,79$   
                                  $n = 1,14$                       IC95 [0,91-2,7]

$Y$  est une fonction de l'équation probit.

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

De plus, dans le green book (TNO, 1992), une équation probit est également proposée pour l'Homme (Perry et Articola, 1980). Cette équation est la suivante :

- **Homme**  $Y = 2,05 \ln(\text{concentration}) + 2,05 \ln(\text{temps}) - 11,67$   
 $n = 2,05/2,05 = 1$

## 6.2 ANALYSE DES EFFETS NON LETAUX

### 6.2.1 SYNTHÈSE DES EFFETS NON LETAUX CHEZ L'HOMME

Concentration (ppm)	Temps (min)	Effets	Référence
0,80	10	Irritations oculaires	Sim et Pattle, 1957
1,22			
0,09	60	Gêne	Weber-Tschopp et al., 1977
0,09		Irritations oculaires	
0,15		Irritations du nez	
0,26		Doublement de la fréquence de clignement des yeux	
0,3		Diminution de 10% de la fréquence respiratoire	
0,43		Irritations de la gorge	
0,6		Diminution de 25% de la fréquence respiratoire	
0,6	5	Augmentation de l'index d'irritation oculaire en fonction de la concentration d'acroléine	Darley et al., 1960
1,3-1,6			
2,0-2,3			
-	-	Définition d'un seuil de perception olfactive : 0,21 ppm	Leonardos et al., 1969

## 6.2.2 SYNTHÈSE DES EFFETS NON LÉTAUX CHEZ L'ANIMAL

Espèce	Concentration (ppm)	Temps (min)	Effets	Référence
Cobayes	0,6	120	Augmentation de la résistance des voies aériennes et diminution de la fréquence respiratoire	Murphy et al., 1963
Cobayes	17	60	Diminution de la fréquence respiratoire et du volume minute. Augmentation de la résistance des voies aériennes et du volume courant.	Davis et al., 1967
Cobayes	Aérosol d'acroléine 5%	5	Atteinte de l'épithélium à des degrés divers : de la simple modification morphologique des cellules jusqu'à l'exfoliation totale.	Dahlgren et Dalen, 1972
Souris	129 et 258	5	Diminution de la fréquence respiratoire, de la compliance pulmonaire et du volume courant. Augmentation de la résistance des voies aériennes.	Watanabe et Aviado, 1974
Souris	0,2 à 10	10	Diminution de la fréquence respiratoire $RD_{50} = 1,7$	Kane et al., 1977
Souris	0,1 à 100	10	Diminution de la fréquence respiratoire $RD_{50} = 1,68$	Kane et al., 1979
Cobayes	6	240	Cytotoxicité et exfoliation des cellules épithéliales	Kilburn et McKenzie, 1978
Souris	0,5 à 10		Diminution de la fréquence respiratoire $RD_{50} = 2,9$	Nielsen et al., 1984
Souris Swiss-Webster	0,08 à 8,11	10	Diminution de la fréquence respiratoire $RD_{50} = 1,03$ (Swiss-Webster)	Steinhagen et Barrow, 1984

Souris B6C3F1	0,04 à 4,92		Diminution de la fréquence respiratoire RD <sub>50</sub> = 1,41 (B6C3F1)	
Rat	0,5 à 10	360	Diminution de la fréquence respiratoire	Babiuk et al., 1985
Babouin	10 à 2780	5	Légère diminution du temps de fuite.	Kaplan, 1987
Rat	200	1	Aucun effet	Lee et al., 1992
	350		Inhibition réversible de la respiration RD <sub>50</sub> = 6	
	600			
Rat	0,25	360	Aucun effet	Cassee et al., 1966
	0,67			
	1,40			

## **7. REVUE DES RESULTATS**

### **7.1 EXTRAPOLATION DES DONNEES EXPERIMENTALES DE L'ANIMAL A L'HOMME**

Les études de létalité chez l'animal sont disponibles chez les rongeurs (rats, souris et hamster) et chez les lapins. Les seules données individuelles de mortalité permettant une analyse par le logiciel probit de l'INERIS (au moins deux temps d'exposition) sont celles obtenues chez le rat (Ballantyne et coll., 1989). De plus, il convient de noter que cette espèce semble être également la plus sensible.

Les données épidémiocliniques et expérimentales disponibles chez l'homme et l'animal permettent de constater que les mécanismes d'action toxique de cette substance sont semblables (l'acroléine est un puissant irritant respiratoire, cutané et oculaire). De plus, les cinétiques de pénétration par voie pulmonaire ne sont probablement pas très différentes puisque l'acroléine réagit très rapidement au niveau du site d'exposition. L'ensemble de ces éléments permet donc l'extrapolation des données animales à l'homme.

### **7.2 SEUILS D'EFFETS LETAUX CHEZ L'HOMME**

L'étude retenue est donc celle de Ballantyne et coll., 1989 réalisée chez le rat sprague Dawley. Les calculs des concentrations létales ont été faits avec le logiciel probit standard et le PKPD. Les résultats (c.f. §10., Tableau 2) mettent en évidence que les résultats obtenus sont très proches. Le groupe d'experts toxicologues a donc choisi de valider les résultats les plus faibles, issus du logiciel probit standard.

Le tableau n°2 en annexe (c.f. §10., Tableau 2) donne le mode de la CL<sub>01</sub>, la CL<sub>05</sub> et la CL<sub>50</sub> pour le rat ainsi que leurs intervalles de confiance et pour des durées d'exposition de 1, 10, 20, 30, 60, 120, 240 et 480 minutes. Le mode correspond à la valeur statistiquement la plus probable. Cependant, il n'est pas possible d'exclure que dans certains cas cette valeur puisse être sur- ou sous-évaluée.

Les valeurs obtenues pour les CL<sub>01</sub> et CL<sub>05</sub> sont les suivantes :

<b>CL<sub>01</sub> (ppm)</b>		<b>CL<sub>05</sub> (ppm)</b>	
<b>Temps (min)</b>	<b>Rat</b>	<b>Temps (min)</b>	<b>Rat</b>
1	557	1	650
10	73	10	85
20	39	20	46
30	27	30	32
60	15	60	18
120	8	120	10
240	4	240	5
480	2	480	3

Les experts toxicologues ont donc convenu de retenir ces valeurs pour la fixation des seuils des effets létaux en cas d'émission accidentelle d'acroléine :

TEMPS (min)	SPEL	
	mg/m <sup>3</sup>	ppm
1	1281	557
10	168	73
20	92	40
30	64	28
60	34	15
120	18	8
240	9	4
480	5	2

TEMPS (min)	SELS	
	mg/m <sup>3</sup>	ppm
1	1495	650
10	195	85
20	106	46
30	74	32
60	41	18
120	23	10
240	11	5
480	7	3

### 7.3 SEUILS DES EFFETS IRREVERSIBLES

La détermination des seuils d'effets irréversibles (SEI) n'a pas été possible au vu des études disponibles. Le groupe d'experts toxicologues propose d'utiliser la méthodologie développée dans le cadre du projet de recherche européen ACUTEX pour extrapoler des seuils d'effets irréversibles à partir du tiers de la CL1%. Les effets de l'acroléine étant considérés comme purement locaux, un facteur par défaut supplémentaire de 1/3 a été retenu par le groupe d'expert :

$$SEI = 1/3CL1\% \times 1/3 = 1/9CL1\%$$



TEMPS (min)	SEI	
	mg/m <sup>3</sup>	ppm
1	143	62
10	18	8
20	9	4
30	7	3
60	5	2
120	2	1
240	0,9	0,4
480	0,5	0,2

#### 7.4 SEUILS DES EFFETS REVERSIBLES

Concernant les effets réversibles, l'analyse des données de Weber-Tschopp et coll., 1977 obtenue chez des volontaires sains met en évidence qu'une exposition à 0,09 ppm pendant 60 minutes induit une gêne et des irritations oculaires. Lors d'une exposition à 0,15 ppm pendant la même durée, des irritations nasales apparaissent. De plus, les études chez l'animal montrent qu'une exposition de souris à l'acroléine pendant 10 minutes induit une diminution de la fréquence respiratoire dès 0,1 ppm. En l'absence d'autres données convergentes dans la littérature, les experts toxicologues ont choisi de retenir une valeur unique pour le seuil des effets réversibles.

TEMPS (min)	SER	
	mg/m <sup>3</sup>	ppm
1	0,2	0,1
10	0,2	0,1
20	0,2	0,1
30	0,2	0,1
60	0,2	0,1
120	0,2	0,1
240	0,2	0,1
480	0,2	0,1

## 7.5 SEUIL DE PERCEPTION

Concernant le seuil de perception, la revue de la littérature réalisée par Ruth, 1986 montre que ce dernier se situe entre 0,01 ppm et 7,5 ppm. L'ECT (Encyclopedia of chemical technology) a publié un seuil olfactif à 0,5 mg/m<sup>3</sup> (0,2 ppm) (Kirk et Othmer, 1991). D'autre part, l'étude de Leonardo et al., 1969 réalisée sur des volontaires sains habitués à la reconnaissance olfactive a déterminé un seuil olfactif de 0,21 ppm. L'OMS a publié un seuil de perception à 0,07 mg/m<sup>3</sup> (0,03 ppm), valeur qui semble particulièrement basse (OMS, 1992). Enfin, l'INRS a publié récemment une valeur de 0,16 ppm (Falcy et Malard, 2005). Dans ces conditions, le groupe d'experts toxicologues a décidé de fixer le seuil de perception à 0,1 ppm.

## **8. CONCLUSION**

### **◆ Seuils d'effets létaux**

<b>TEMPS (min)</b>	<b>SPEL</b>	
	<b>mg/m<sup>3</sup></b>	<b>ppm</b>
1	1281	557
10	168	73
20	92	40
30	64	28
60	34	15
120	18	8
240	9	4
480	5	2

<b>TEMPS (min)</b>	<b>SELS</b>	
	<b>mg/m<sup>3</sup></b>	<b>ppm</b>
1	1495	650
10	195	85
20	106	46
30	74	32
60	41	18
120	23	10
240	11	5
480	7	3

◆ **Seuils d'effets irréversibles**

TEMPS (min)	SEI	
	mg/m <sup>3</sup>	ppm
1	143	62
10	18	8
20	9	4
30	7	3
60	5	2
120	2	1
240	0,9	0,4
480	0,5	0,2

◆ **Seuils d'effets réversibles**

TEMPS (min)	SER	
	mg/m <sup>3</sup>	ppm
1	0,2	0,1
10	0,2	0,1
20	0,2	0,1
30	0,2	0,1
60	0,2	0,1
120	0,2	0,1
240	0,2	0,1
480	0,2	0,1

◆ **Seuil de perception**

Seuil olfactif : 0,1 ppm (0,2 mg/m<sup>3</sup>)

## 9. RÉFÉRENCES

- Babiuk C., Steinhagen W.H. and Barrow C.S.** (1985) - Sensory irritation response to inhaled aldehydes after formaldehyde pretreatment. *Toxicol Appl Pharmacol*, **79**, 1, 143-149.
- Ballantyne B., Dodd D.E., Pritts I.M., Nachreiner D.J. and Fowler E.H.** (1989) - Acute vapour inhalation toxicity of acrolein and its influence as a trace contaminant in 2-methoxy-3,4-dihydro-2H-pyran. *Hum Toxicol*, **8**, 3, 229-235.
- Beeley J.M., Crow J., Jones J.G., Minty B., Lynch R.D. et Pryce D.P.** (1986) – Mortality and lung histopathology after inhalation lung injury. *Am Rev Respir Dis*, **133**, 191-196.
- Catilina P., Thieblot L. and Champeix J.** (1966) - Experimental respiratory lesions by inhalation of acrolein in the rat. *Arch Mal Prof*, **27**, 12, 857-867.
- Cassee F.R., Groten J.P. et Feron V.J.** (1996) – Changes in the nasal epithelium of rats exposed by inhalation to mixtures of formaldehyde, acetaldehyde and acrolein. *Fund Appl Toxicol*, **29**, 208-218.
- Champeix J., Courtial L., Perche E. and Catalina P.** (1966) - Acute broncho-pneumopathy from acrolein vapors. *Arch Mal Prof*, **27**, 10, 794-796.
- Cullumbine H. and Pattle R.E.** (1956) - Toxicity of some atmospheric pollutants. *Br Med J*, **12**, 4998, 913-916.
- Dahlgren S.E. et Dalen H.** (1972) – Ultrastructural observations on chemically induced inflammation in guinea pig trachea. *Virchows Arch Abt B Zellpath*, **11**, 211-223.
- Darley E.F., Middleton J.T. and Garber M.J.** (1960). Plant damage and eye irritation from ozone-hydrocarbon reactions. *J Agricul Food Chem*, **8**, 483-485.
- Davis T.R., Battista S.P. and Kensler C.J.** (1967) - Mechanism of respiratory effects during exposure of guinea pigs to irritants. *Arch Environ Health*, **15**, 4, 412-419.
- Falcy M. et Malard S.** (2005). – Comparaison des seuils olfactifs de substances chimiques avec des indicateurs de sécurité utilisés en milieu professionnel. *INRS – Hygiène et sécurité du travail – Cahiers de notes documentaires – ND 2221 – 198 – 05*; 7-21.
- INRS** (1999) – Acroléine. *Fiche toxicologique n°57*, 1-6.
- Kane L.E. and Alarie Y.** (1977) - Sensory irritation to formaldehyde and acrolein during single and repeated exposures in mice. *Am Ind Hyg Assoc J*, **38**, 10, 509-522.
- Kane L.E., Barrow C.S. and Alarie Y.** (1979) - A short-term test to predict acceptable levels of exposure to airborne sensory irritants. *Am Ind Hyg Assoc J*, **40**, 3, 207-229.
- Kaplan H.L.** (1987) - Effects of irritant gases on avoidance/escape performance and respiratory response of the baboon. *Toxicology*, **47**, 1-2, 165-179.

- Kilburn K.H. et McKenzie W.N.** (1978) – Leukocyte recruitment to airways by aldehyde-carbon combinations that mimic cigarette smoke. *Lab Invest*, **38(2)**, 134-142.
- Kirk R. and Othmer D.** (1991). Acrolein. Encyclopedia of Chemical technology, 4<sup>e</sup> ed. Vol1.
- Kruysse A.** (1971). Acute inhalation toxicity of acrolein in hamsters. TNO, rapport n°R3516.
- Lee B.P., Morton R.F. and Lee L.Y.** (1992) - Acute effects of acrolein on breathing: role of vagal bronchopulmonary afferents. *J Appl Physiol*, **72**, 3, 1050-1056.
- Leonardos G., Kendall D. and Barnard N.** (1969). Odor threshold determinations of 53 odorant chemicals. *J Air Poll Control Assoc*, **19**, 2, 91-95.
- Murphy S.D., Klingshirn D.A. and Ulrich C.E.** (1963) - Respiratory response of guinea pigs during acrolein inhalation and its modification by drugs. *J Pharmacol Exp Ther*, **141**, 79-83.
- Nielsen G.D., Bakbo J.C. and Holst E.** (1984) - Sensory irritation and pulmonary irritation by airborne allyl acetate, allyl alcohol, and allyl ether compared to acrolein. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*, **54**, 4, 292-298.
- OMS** (1992). Acrolein. Environmental Health Criteria 127, Geneva.
- Philippin C., Gilgen A. and Grandjean E.** (1970) - [Toxicological and physiological investigation on acrolein inhalation in the mouse]. *Int Arch Arbeitsmed*, **26**, 4, 281-305.
- Ruth J.H.** (1986) – Odor thresholds and irritation levels of several chemical substances : a review. *Am Ind Hyg Assoc J*, **47**, 142-151.
- Sim V.M. and Pattle R.E.** (1957) - Effect of possible smog irritants on human subjects. *J Am Med Assoc*, **165**, 15, 1908-1913.
- Skog E.** (1950). A toxicological investigation of lower aliphatic aldehydes. *Acta pharmacol.*, **6**, 299-318.
- Steinhagen W.H. and Barrow C.S.** (1984) - Sensory irritation structure-activity study of inhaled aldehydes in B6C3F1 and Swiss-Webster mice. *Toxicol Appl Pharmacol*, **72**, 3, 495-503.
- Watanabe T. and Aviado, D.M.** (1974). Functional and biochemical effects on the lung following inhalation of cigarette smoke and constituents. II. Skatole, acrolein, and acetaldehyde. *Toxicol. appl. Pharmacol.* **30**, 201-209.
- Weber-Tschopp A., Fischer T., Gierer R. and Grandjean E.** (1977) - [Experimentally induced irritating effects of acrolein on men (author's transl)]. *Int Arch Occup Environ Health*, **40**, 2, 117-130.

## **10. LISTE DES ANNEXES**

<b>Repère</b>	<b>Titre</b>	<b>Nb pages</b>
Annexe 1	Cotation de Klimisch : critères pour la détermination de la validité scientifique d'une étude.	1
Annexe 2	Principales données expérimentales sur la mortalité induite par l'acroléine.	1
Annexe 3	Seuils des effets létaux déterminés pour l'acroléine chez le rat.	2
Annexe 4	Résultats obtenus en sortie du logiciel Probit standard	5
Annexe 5	Résultats obtenus en sortie du logiciel Probit PKPD	6

# Annexe 1

***Cotation de Klimisch : critères pour la détermination de la validité scientifique d'une étude.***

<b>Cotation</b>	<b>Signification</b>
1	Acceptable <i>Etude conduite sous « Bonnes Pratiques de Laboratoire ».</i>
2	Acceptable avec restrictions <i>Etude qui n'a pas été réalisée sous BPL mais qui est très bien documentée.</i>
3	Non acceptable <i>Etude pour laquelle les données scientifique sont insuffisantes pour en évaluer la pertinence.</i>
4	Etude non évaluable <i>Résumé, littérature secondaire, publication en langue étrangère (autre que l'anglais).</i>



## Annexe 2

### Principales données expérimentales sur la mortalité induite par l'acroléine.

Etudes	Espèces	Durée d'exposition (min)	Concentration (ppm)	Nombre de décès	Nombre d'animaux par lot	Valeur	
Ballantyne et al. (1989)	Rat	60	14	0	5	2	
			22	0	5		
			24	2	5		
			31	5	5		
			81	5	5		
		CL <sub>50</sub> = 26 ppm					
		240	4,8	0	5		
			7	3	5		
			9,1	3	5		
			12,1	5	5		
CL <sub>50</sub> = 8,3 ppm							
Kruyssen, 1971	Hamster	240	11,2	0	10	2	
			23,3	3	10		
			30	8	10		
			30,4	8	10		
		CL <sub>50</sub> = 25,4 ppm					
Philipin et al., 1970	Souris	360	31	0	20	2	
			60	8	20		
			80	18	24		
			119	44	44		
		CL <sub>50</sub> = 66 ppm					
Beeley et al., 1989	Lapin	15	376	5	18	2	
			489	8	18		

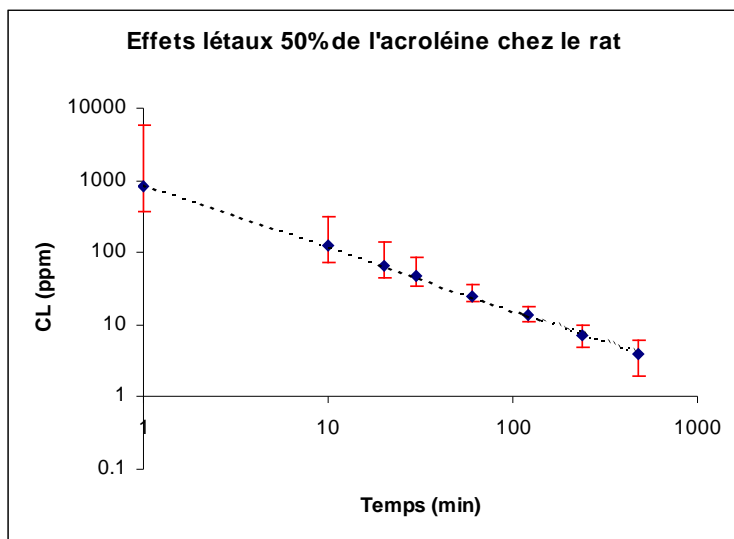
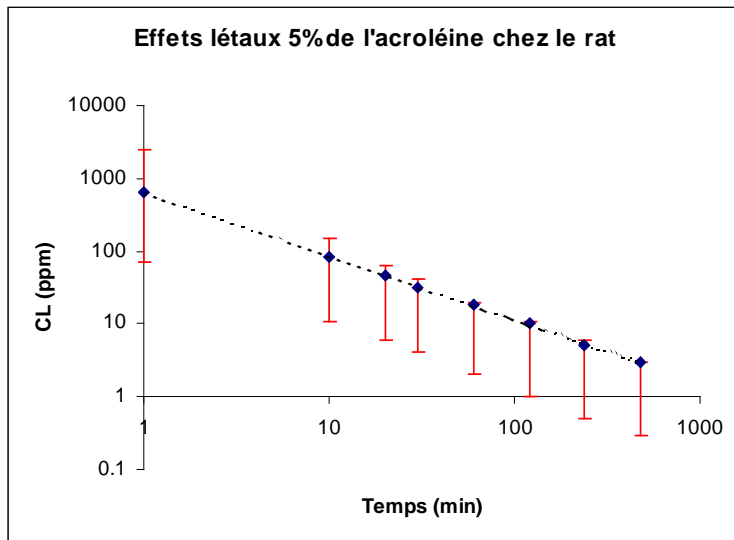
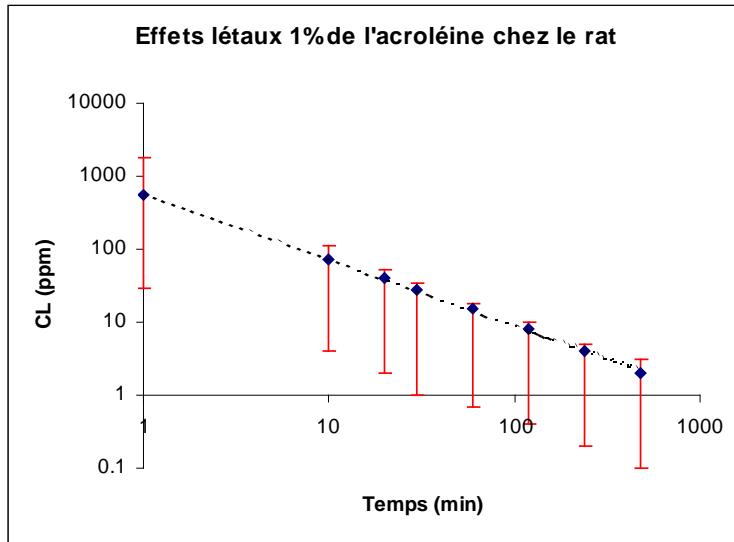
## Annexe 3

### *Seuils des effets létaux déterminés pour l'acroléine chez le rat (Ballantyne et al., 1989).*

Le tableau suivant présente pour chaque durée d'exposition, la valeur du mode ainsi que des bornes de l'intervalle de confiance des concentrations létales 1%, 5% et 50% issues du calcul par le logiciel probit standard ou par le PKPD.

<b>Temps</b>	<b>CL1%</b>	<b>CL5%</b>	<b>CL50%</b>
	<b>Probit Std [IC95]</b>	<b>Probit Std [IC95]</b>	<b>Probit Std [IC95]</b>
	<b>PKPD [IC95]</b>	<b>PKPD [IC95]</b>	<b>PKPD [IC95]</b>
<b>1</b>	557 [29 ;1760]	650 [70 ;2530]	840 [373 ;5800]
	566 [8 ;1030]	656 [16 ;1310]	934 [83 ;2670]
<b>10</b>	73 [4 ;113]	85 [11 ;147]	124 [74 ;320]
	75 [3 ;96,5]	87 [6 ;116]	124 [35 ;216]
<b>20</b>	40 [2 ;53]	46 [6 ;65]	67 [46 ;137]
	41 [2 ;49]	47 [4 ;57]	67 [26 ;102]
<b>30</b>	28 [1 ;35]	32 [4 ;42]	47 [34 ;84]
	29 [2 ;33]	33 [4 ;38]	47 [22 ;67]
<b>60</b>	15 [0,7 ;18]	18 [2 ;20]	25 [21 ;37]
	16 [1 ;17]	18 [3 ;20]	26 [17 ;33]
<b>120</b>	8 [0,4 ;10]	10 [1 ;11]	14 [11 ;18]
	8 [0,7 ;10]	10 [2 ;11]	14 [11 ;18]
<b>240</b>	4 [0,2 ;5]	5 [0,5 ;6]	7 [5 ;10]
	5 [0,5 ;5]	5 [1 ;6]	8 [6 ;12]
<b>480</b>	2 [0,1 ;3]	3 [0,3 ;3]	4 [2 ;6]
	3 [0,3 ;3]	3 [0,7 ;4]	4 [3 ;9]

**Graphique 1** : seuils des effets létaux déterminés pour l'acroléine chez le rat (Ballantyne et coll., 1989) par le logiciel probit standard.



# Annexe 4

## Résultats obtenus en sortie du logiciel probit standard

### Simulations output

Binary regression with the standard log-probit model

#### I. The data

Substance : Acroléine

Species : Rat

Study reference : Ballantyne et al

Number of groups : 9

C	T	n_obs	n_incid
14	60	5	0
22	60	5	0
24	60	5	2
31	60	5	5
81	60	5	5
4.8	240	5	0
7	240	5	3
9.1	240	5	3
12.1	240	5	5

#### II. Model parameter estimates and their confidence intervals

##### Model parameter estimates

	Estimate*	Average	95% Confidence Interval
n	0.881764	0.942	[0.658,1.32]
mu	6.84675	7.15	[5.78,8.94]
sigma	0.224816	0.456	[0.171,1.5]

\* The estimate is obtained from maximum posterior vector.

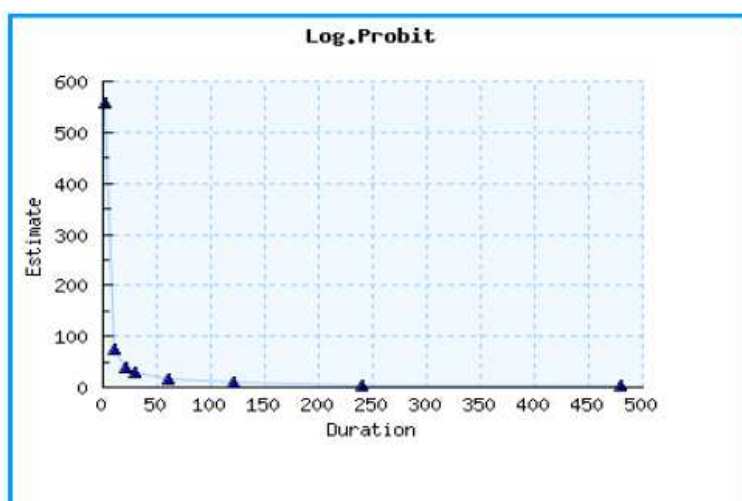
Effective toxic dose equation :

$$4.448 \ln( C ) + 3.922 \ln( \text{Time} ) - 30.455$$

### III. Reference concentrations and their 95% confidence intervals

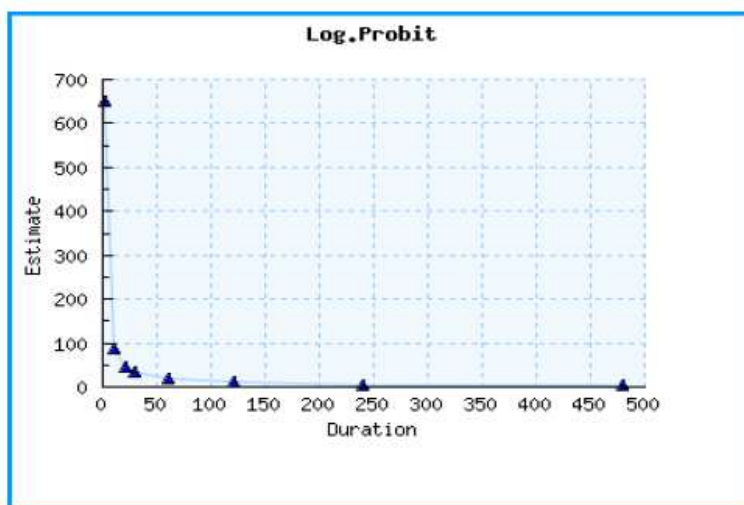
Reference concentrations LC1% and their 95% confidence intervals

	estimate	average	95% Confidence Interval
1	557.202	619	[29.3,1760]
10	73.1558	61.2	[4.25,113]
20	39.7019	31.4	[2.1,53.1]
30	27.7678	21.3	[1.35,35]
60	15.0697	11.1	[0.7,17.8]
120	8.17835	5.81	[0.414,9.61]
240	4.43842	3.08	[0.206,5.33]
480	2.40875	1.64	[0.102,3]



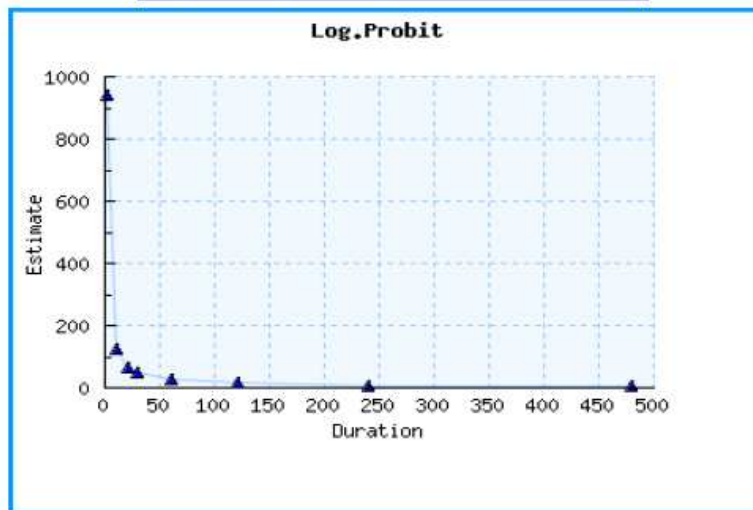
**Reference concentrations LC5% and their 95% confidence intervals**

	estimate	average	95% Confidence Interval
1	649.971	891	[70.5,2530]
10	85.3355	79	[11.3,147]
20	46.3119	40.2	[6.41,64.7]
30	32.3908	27.3	[4.41,41.6]
60	17.5786	14.1	[2.2,20.4]
120	9.53996	7.39	[1.17,10.9]
240	5.17737	3.9	[0.537,6.02]
480	2.80978	2.08	[0.286,3.5]

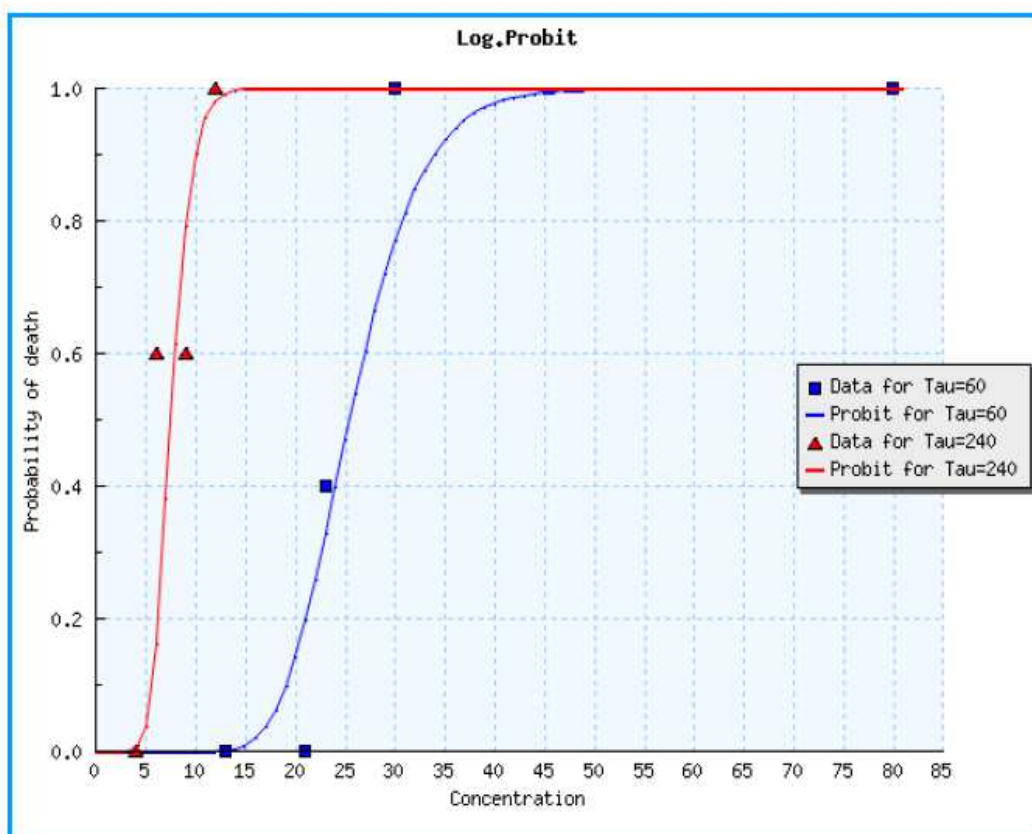


**Reference concentrations LC50% and their 95% confidence intervals**

	estimate	average	95% Confidence Interval
1	940.818	29000	[323,7620]
10	123.521	199	[70.8,380]
20	67.0354	85.8	[44.1,151]
30	46.8849	55.6	[33.2,90.1]
60	25.4446	27.7	[20.3,37.9]
120	13.8089	14.2	[11.4,17.7]
240	7.49413	7.44	[5.26,9.83]
480	4.06709	3.95	[2.21,6.02]



#### IV. Estimated probability of death for min exposure





# Annexe 5

## Résultats obtenus en sortie du logiciel Probit PKPD

### Simulations output

Binary regression with the PKPD probit model

#### 1/ The data

Substance : Acroléine

Species : Rat

Study reference : Ballantyne et al.

Number of groups : 9

Concentration	Time	N_obs	N_incident
14	60	5	0
22	60	5	0
24	60	5	2
31	60	5	5
81	60	5	5
4.8	240	5	0
7	240	5	3
9.1	240	5	3
12.1	240	5	5

## 2/ Model parameter estimates and their confidence intervals

**Model parameter estimates**

	Estimate*	95% Confidence Interval
k	9.951	[0.554,14.4]
kr	0.374	[0.064,0.962]
n	1.139	[0.914,2.7]
mu	11.072	[7.99,14.9]
sigma	0.245	[0.195,2.69]

\* The estimate is obtained from maximum posterior vector.

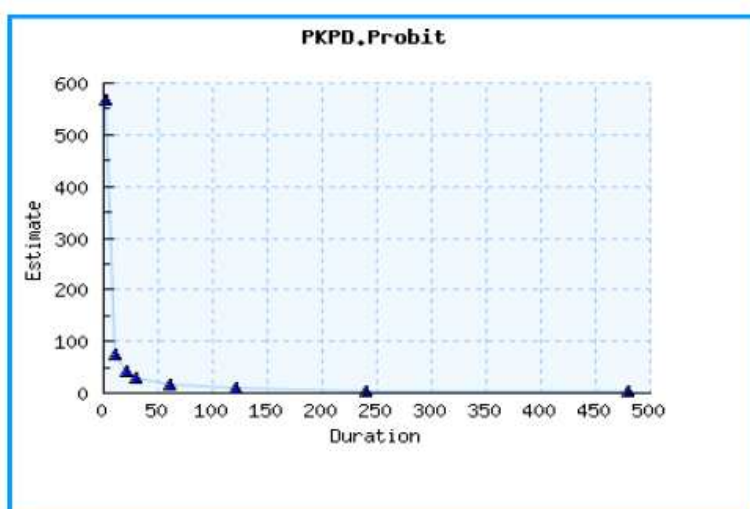
Effective toxic dose is approximately :

$$4.649 \ln ( C ) + 4.082 \ln ( \text{ Time } ) - 27.789$$

### 3/ Reference concentrations and their 95% confidence intervals

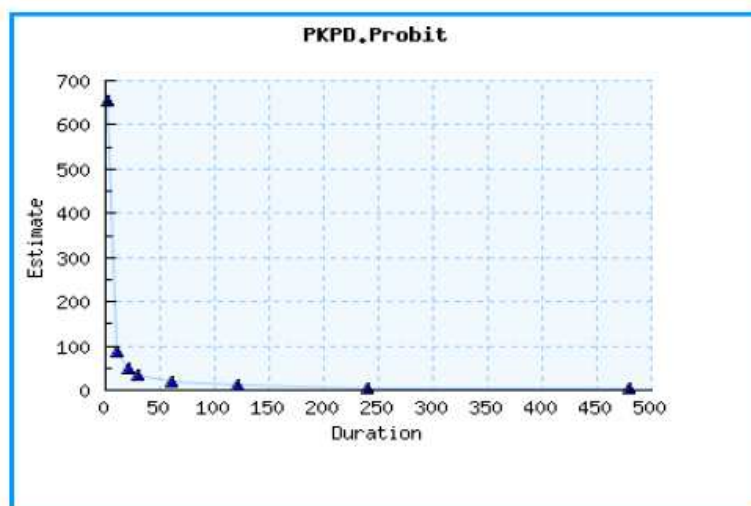
Reference concentrations LC1% and their 95% confidence intervals

	estimate	95% Confidence Interval
1	566.435	[7.57, 1030]
10	75.028	[2.69, 96.5]
20	40.827	[1.9, 49]
30	28.599	[1.53, 33.2]
60	15.562	[1.09, 17.5]
120	8.468	[0.74, 9.58]
240	4.608	[0.477, 5.43]
480	2.507	[0.291, 3.21]



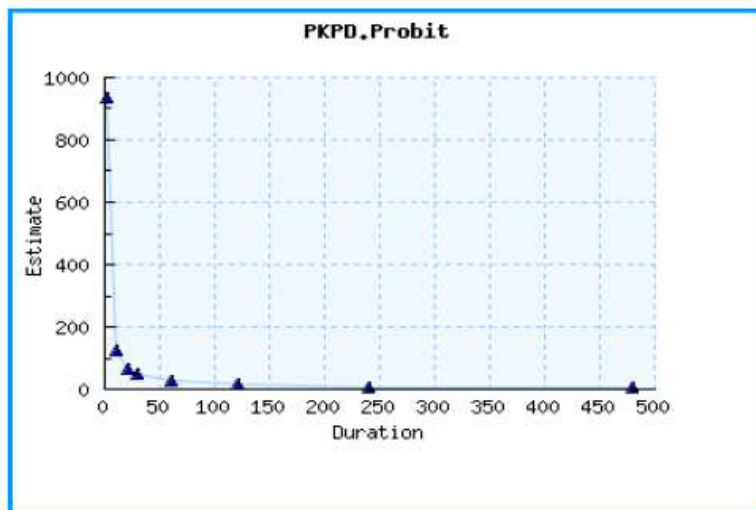
**Reference concentrations LC5% and their 95% confidence intervals**

	estimate	95% Confidence Interval
1	656.249	[16.1,1310]
10	86.925	[6.19,116]
20	47.3	[4.47,57.4]
30	33.133	[3.62,38.4]
60	18.03	[2.58,19.9]
120	9.811	[1.74,10.9]
240	5.339	[1.11,6.2]
480	2.905	[0.66,3.76]



**Reference concentrations LC50% and their 95% confidence intervals**

	estimate	95% Confidence Interval
1	934.472	[82.9,2670]
10	123.778	[34.8,216]
20	67.353	[26.4,102]
30	47.181	[22.5,66.7]
60	25.673	[16.8,32.8]
120	13.97	[11.4,18]
240	7.602	[6.08,12.3]
480	4.137	[2.94,9.16]



#### 4. Probability of an adverse response of all the simulation

