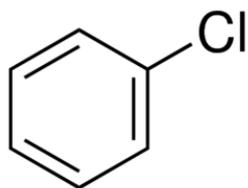


**Groupe d'Experts Toxicologues du Ministère en
charge de l'environnement**

**Seuils de toxicité aiguë
Chlorobenzène (CAS N° 108-90-7)**



Seuils de Toxicité aiguë

Chlorobenzène (N° CAS : 108-90-7)

PREAMBULE

Le présent rapport a été établi à partir du rapport INERIS référencé *Ineris-200364-2702362* « Seuils de Toxicité aiguë pour le chlorobenzène (N° CAS : 108-90-7) » et amendé suite à son examen par le groupe d'experts toxicologues du Ministère en charge de l'environnement.

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

Date de la revue bibliographique	Décembre 2022
Soumission de la version projet aux experts par voie électronique	Février 2022
Examen(s) par les experts	Avril 2022
Soumission de la version finale aux experts par voie électronique	Avril 2022
Rapport amendé et finalisé	Août 2022

TABLE DES MATIERES

1	Synthèse	5
2	Introduction	9
3	Propriétés physicochimiques et usages.....	10
4	Valeurs officielles existantes	11
5	Données de toxicité chez l'homme	13
5.1	Données épidémiocliniques.....	13
5.2	Données expérimentales chez les volontaires sains.....	13
5.3	Cas d'intoxication	14
6	Données de toxicité chez l'animal	14
6.1	Etude des effets létaux.....	14
6.1.1	Chez les rongeurs : Rat, Souris et Cobayes.....	14
6.1.2	Chez le lapin	18
6.1.3	Chez le chien	19
6.1.4	Chez les primates non humains	19
6.2	Etude des effets non létaux	19
6.2.1	Chez les rongeurs : Rat, Souris et Cobayes.....	19
6.2.2	Chez le lapin	23
6.2.3	Chez le chien	23
6.2.4	Chez les primates non humain.....	23
7	Analyse des données de toxicité	24
7.1	Analyse des données de mortalité.....	24
7.1.1	Etudes qualitatives	24
7.1.2	Analyse quantitative	24
7.2	Analyse des effets non létaux.....	26
7.2.1	Synthèse des effets non létaux chez l'homme.....	26
7.2.2	Synthèse des effets non létaux chez l'animal	27
8	Revue des résultats.....	28
8.1	Extrapolation des données expérimentales de l'animal à l'homme	28
8.2	Seuils d'effets létaux chez l'homme.....	29
8.3	Seuils des effets irréversibles.....	30
8.4	Seuils des effets réversibles.....	31
8.5	Seuil de perception	31
9	Conclusion	32
10	Références	34
11	Liste des annexes.....	36

1 SYNTHESE

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

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

Dans ce contexte, le ministère en charge de L'Environnement a demandé à l'INERIS de lui proposer des "seuils des effets létaux significatifs" (SELS), des "seuils des premiers effets létaux" (SPEL), des "seuils des effets irréversibles" (SEI), des "seuils des effets réversibles" (SER) et un "seuil de perception" (SP) pour le chlorobenzène.

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

◆ **Seuils d'effets létaux significatifs**

Temps (min)	SELS	
	mg.m ⁻³	ppm
1*	12 254	2 607**
10	5 689	1 210
20	4 515	961
30	3 943	839
60	3 130	666
120	2 485	529
240	1 972	420
480	1 292	275

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

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

** Valeur supérieure à 10% de limite inférieure d'explosivité

◆ **Seuils des premiers effets létaux**

Temps (min)	SPEL	
	mg.m ⁻³	ppm
1*	9 767	2 078**
10	4 534	965
20	3 599	766
30	3 143	669
60	2 494	531
120	1 980	421
240	1 571	334
480	1 030	219

◆ **Seuils d'effets irréversibles**

Temps (min)	SEIc	
	mg.m ⁻³	ppm
1*	1 085	231
10	504	107
20	400	85
30	349	74
60	277	59
120	220	47
240	175	37
480	114	24

SEIc : Seuil des effets irréversibles calculatoire

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

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

** Valeur supérieure à 10% de limite inférieure d'explosivité

◆ **Seuils d'effets réversibles**

Temps (min)	SER	
	mg.m ⁻³	ppm
1*	704	150
10	327	70
20	259	55
30	227	48
60	180	38
120	143	30
240	113	24
480	82	18

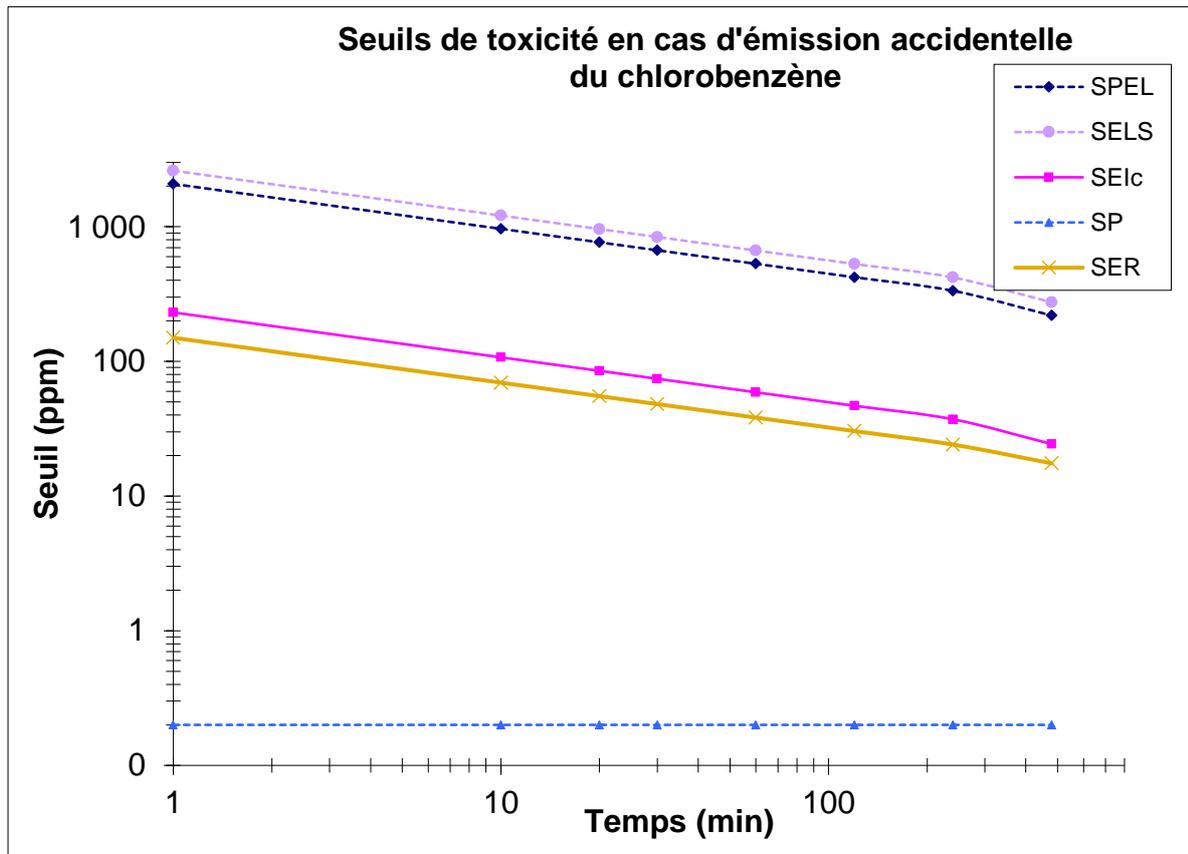
◆ **Seuil de perception**

Le chlorobenzène est un liquide incolore, volatil, d'odeur agréable rappelant celle des amandes. La limite de détection olfactive est variable selon les individus de 0,2 à 2 ppm (1 à 10 mg.m⁻³) (CNESST, 2002 ; NRC, 2012 ; Ruth, 1986).

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

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

Graphique 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, entre les représentants de l'Administration, de l'INERIS et de l'Industrie Chimique et sont reprises dans la méthodologie révisée de décembre 2007.

Trois types d'effets toxiques ont été définis :

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

Les couples concentration - durée d'exposition associés à ces effets permettent de déterminer les seuils de toxicité aiguë que sont :

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

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

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

3 PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES ET USAGES

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

Paramètre	Valeur/description	Référence
Nom chimique	Chlorobenzène ; Monochlorobenzène ; MCB	
Numéro CAS	108-90-7	(ATSDR, 2020 ; CNESST, 2002 ; NRC, 2012)
Numéro EINECS	203-628-5	
Formule chimique	C ₆ H ₅ Cl	
Etat physique (température ambiante)	Liquide incolore	
Masse molaire	112,56 g.mol ⁻¹	
Tension de vapeur	1 173 Pa à 20 °C 1 573 Pa à 25 °C	
Concentration de vapeur saturante à 25°C	71,4 g.m ⁻³	Voir formule +
Densité vapeur (air=1)	3,88	(CARATEX, 2020 ; CNESST, 2002 ; INRS, 2009)
Solubilité (eau)	Pratiquement insoluble dans l'eau (500 mg/L à 20 °C)	(ATSDR, 2020 ; CNESST, 2002 ; INRS, 2009 ; NRC, 2012)
Température d'ébullition	132 °C	(ATSDR, 2020 ; INRS, 2009 ; NRC, 2012)
Température de fusion	- 45,6 °C	(ATSDR, 2020 ; INRS, 2009 ; NRC, 2012)
Limite d'explosivité	Limite inférieure d'explosivité : 1,3 % Limite supérieure d'explosivité : 11 %	(ATSDR, 2020 ; CARATEX, 2020 ; NRC, 2012)
Limite d'inflammabilité	Limite inférieure d'inflammabilité : 1,8 % Limite supérieure d'inflammabilité : 9,6 %	(ATSDR, 2020 ; NRC, 2012)
Conversion à 20°C	1 ppm = 4,7 mg.m ⁻³ 1 mg/m ³ = 0,22 ppm	

+ Calcul de la concentration de vapeur saturante à 25°C :

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

avec P (pression de vapeur) = 1 573 Pa

MM (masse molaire) = 112,56 g.mol⁻¹

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

T (température) = 298,15 K

Le chlorobenzène est un liquide incolore, volatil, d'odeur agréable rappelant celle des amandes. Il est utilisé comme intermédiaire de synthèse organique (notamment pour la fabrication de colorants et de pesticides), solvant, agent d'extraction dans certaines réactions chimiques et dégraissant (industrie textile et métallurgie).

4 VALEURS OFFICIELLES EXISTANTES

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

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

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

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

Aucune valeur ERPG n'a été déterminée pour le chlorobenzène.

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

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

Les valeurs AEGL pour le chlorobenzène sont les suivantes :

Durée (min)	10	30	60	240	480
AEGL-1 (ppm)	10	10	10	10	10
AEGL-2 (ppm)	430	300	150	150	150
AEGL-3 (ppm)	1 100	800	400	400	400

Il existe également une valeur seuil IDLH (1964) 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 chlorobenzène, cette valeur était initialement de 2 400 ppm mais a été révisée à 1 000 ppm en 1994 sur la base des données de toxicité aiguë chez l'animal (NIOSH, 1994).

Classification harmonisée du chlorobenzène (de l'annexe du règlement UE 2016/1179, 9^{ème} ATP) (consulté en décembre 2020)

Classe et catégorie de danger	Mention de danger
Acute Tox. 4 ; H332	H332 : Nocif par inhalation
Skin Irrit. 2 ; H315	H315 : Provoque une irritation cutanée
Aquatic Chronic 2 ; H411	H411 : Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets à long terme
Flam. Liq. 3 ; H226	H226 : Liquide et vapeurs inflammables

Classification du dossier d'enregistrement REACH du chlorobenzène¹ (consulté en décembre 2020, Règlement EC/1272/2008)

Classe et catégorie de danger	Mention de danger
Acute Tox. 4 ; H332	H332 : Nocif par inhalation
Skin Irrit. 2 ; H315	H315 : Provoque une irritation cutanée
Aquatic Chronic 2 ; H411	H411 : Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets à long terme
Flam. Liq. 3 ; H226	H226 : Liquide et vapeurs inflammables

¹ <https://echa.europa.eu/fr/registration-dossier/-/registered-dossier/1962/2/1/?documentUUID=ac873c46-37e9-411b-ab7c-968b81fa41c2>

5 DONNEES DE TOXICITE CHEZ L'HOMME

Plusieurs cas d'intoxication par inhalation et voie orale chez l'homme rapportent une somnolence, une irritation oculaire et des voies respiratoires, une incoordination et une perte de connaissance. Les concentrations d'exposition ne sont pas rapportées (NRC, 2012). Une concentration irritante de 205 ppm a été rapportée sans davantage de précision (Ruth, 1986).

5.1 DONNEES EPIDEMIOCLINIQUES

✓ Izmerov *et al.*, 1988

Les auteurs ont rapporté des modifications de l'électroencéphalogramme (EEG) chez les individus exposés au chlorobenzène (modifications non décrites). Sur la base des changements de l'activité électrique cérébrale, la concentration de $0,1 \text{ mg.m}^{-3}$ est considérée par les auteurs comme une concentration sans effet. La concentration de $0,2 \text{ mg.m}^{-3}$ (durée d'exposition non précisée) induit des modifications de l'activité électrique cérébrale. L'étude source n'est pas disponible mais a fait l'objet d'une expertise collective (NRC, 2012). Par ailleurs, il est signalé que les individus ont potentiellement été exposés à d'autres substances (non précisées).

5.2 DONNEES EXPERIMENTALES CHEZ LES VOLONTAIRES SAINS

• Ogata *et al.*, 1991

- ✓ **Nombre de volontaires** : 5 individus de sexe masculin (de 30 à 63 ans)
- ✓ **Conditions expérimentales** : dans une étude ayant pour objectif initial l'évaluation des métabolites urinaires du chlorobenzène, les volontaires exposés ont été invités à signaler les effets ressentis.
- ✓ **Concentrations d'exposition** : $60,2 \pm 3,9$ ppm (les concentrations d'exposition ont été déterminées par chromatographie gazeuse)
- ✓ **Temps d'exposition** : 7 heures (3 heures le matin et 4 heures l'après-midi avec une heure de pause entre les deux expositions)
- ✓ **Temps d'observation** : -
- ✓ **Groupe témoin** : non
- ✓ **Résultats** : Tous les volontaires se sont plaints d'une odeur désagréable et de somnolence. Les effets suivants ont été rapportés par les volontaires : maux de tête (3/5), douleur lancinante dans les yeux (2/5) et des maux de gorge (1/5). Aucune information n'a été rapportée par les auteurs sur le délai d'apparition de ces effets. Aucune modification de la pression artérielle ou de la fréquence cardiaque n'a été observée.

• Knecht et Weitowitz, 2000

- ✓ **Nombre de volontaires** : 8 individus (6 hommes et 2 femmes, de 22 à 56 ans)
- ✓ **Conditions expérimentales** : dans une étude ayant pour objectif initial l'évaluation des métabolites urinaires du chlorobenzène, les volontaires exposés ont été invités à signaler les effets ressentis.
- ✓ **Concentrations d'exposition** : $9,6 \pm 0,4$ ppm (les concentrations d'exposition ont été déterminées par chromatographie gazeuse)
- ✓ **Temps d'exposition** : 8 heures par jour, pendant 5 jours
- ✓ **Temps d'observation** : -
- ✓ **Groupe témoin** : non

- ✓ **Résultats** : A l'issue du premier jour d'exposition, aucun effet n'a été rapporté chez les volontaires exposés.

5.3 CAS D'INTOXICATION

- **Reich, 1934**

Des effets cliniques ont été rapportés chez un enfant de 2 ans ayant ingéré et inhalé 5 à 10 mL de chlorobenzène : perte de réflexes, perte de conscience et cyanose.

6 DONNEES DE TOXICITE CHEZ L'ANIMAL

6.1 ETUDE DES EFFETS LETAUX

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

6.1.1 CHEZ LES RONGEURS : RAT, SOURIS ET COBAYES

6.1.1.1 RATS

- **Bonnet et al., 1982 - Cotation 2** (Etude de bonne qualité, protocole similaire aux lignes directrices OCDE, antérieure aux BPL, peu de détails sur les résultats expérimentaux)

- ✓ **Espèce étudiée** : rat Sprague Dawley
- ✓ **Conditions expérimentales** : Les animaux sont exposés en corps entier à des vapeurs de chlorobenzène à l'intérieur de la chambre d'exposition traversées par un flux d'air laminaire régulé en température et en humidité. Le chlorobenzène liquide est vaporisé à l'entrée de la chambre d'exposition dans le flux d'air. Des échantillons d'atmosphères, prélevés régulièrement dans les chambres d'exposition, ont été analysés par un dispositif automatique de chromatographie en phase gazeuse.
Durant l'exposition, les rats sont observés fréquemment afin de noter les signes cliniques. Un examen macroscopique des principaux organes (notamment les poumons, le foie et les reins) a été réalisé. En cas de lésions observables, des prélèvements ont été pratiqués afin de réaliser un examen histopathologique.
- ✓ **Concentrations d'exposition** : 2 000 - 2 250 - 2 460 - 3 025 - 3 225 ppm
- ✓ **Temps d'exposition** : 6 heures
- ✓ **Temps d'observation** : 14 jours
- ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 12 mâles (2 lots pour les deux plus fortes concentrations)
- ✓ **Lot témoin** : -

- ✓ **Résultats** : Les effets suivants ont été rapportés pendant l'exposition (concentrations non précisées) : hypotonie, somnolence, tremblements et contractions musculaires. Les données de mortalité ont été identifiées par lecture graphique et sont présentées dans le tableau ci-après. La CL₅₀ déterminée par les auteurs est de 2 965 ppm [IC95 % : 2 787-3 169] pour 6 heures d'exposition. L'équation Probit est la suivante : $-33 + 10,9 \times \log C$.

Concentration (ppm)	Mortalité
2 000	1 / 12
2 250	1 / 12
2 460	3 / 12
2 770	3 / 12
3 025	4 / 12
3 025	7 / 12
3 225	9 / 12
3 225	10 / 12

- **Eastman Kodak Co, 1994 - Cotation 4** (très peu de détails sur les conditions expérimentales et les résultats, étude non disponible)
 - ✓ **Espèce étudiée** : rat (souche non précisée)
 - ✓ **Conditions expérimentales** : -
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 9 000 et 22 000 ppm
 - ✓ **Temps d'exposition** : 210 et 360 minutes
 - ✓ **Temps d'observation** : -
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 3 (sexe non précisé)
 - ✓ **Lot témoin** : -
 - ✓ **Résultats** : Deux rats sur trois sont morts suite à l'exposition à 22 000 ppm pendant 210 minutes et 2/3 rats sont morts à la concentration de 9 000 ppm pendant 360 minutes.
- **Klimisch, 1988 - Cotation 3** (Protocole similaire aux lignes directrices OCDE, non BPL, faible nombre d'animaux, nombre de durée d'exposition inconnue, présence d'aérosol)
 - ✓ **Espèce étudiée** : rat (souche non précisée)
 - ✓ **Conditions expérimentales** : les animaux ont été exposés « tête seule » à des vapeurs de chlorobenzène à concentration saturante. Les vapeurs ont été générées à partir d'un flacon de chlorobenzène liquide chauffé dans un bain thermostaté maintenu à la température souhaitée. Les auteurs rapportent qu'un aérosol (granulométrie < 1 µm) peut parfois se former en petites quantités (moins de 1% en masse) et que les concentrations ont été analysées à l'aide d'une méthode analytique appropriée (sans toutefois la préciser).
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 66 mg/L soit 14 520 ppm (concentration à saturation)
 - ✓ **Temps d'exposition** : de 10 à 110 minutes (nombre de durée d'exposition inconnu)
 - ✓ **Temps d'observation** : 14 jours
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 3
 - ✓ **Lot témoin** : -

- ✓ **Résultats** : Les auteurs ont déterminé les durées d'exposition associées à 0 % (LT₀) et 50 % (LT₅₀) de mortalité dans les 14 jours suivant l'exposition. Une LT₀ de 0,17 heures et une LT₅₀ de 1,8 heures ont été déterminées.
- **Etude N°4 du dossier d'enregistrement REACH, 1960 - Cotation 4** (Protocole similaire aux lignes directrices OCDE, antérieure aux BPL, étude source non disponible, résumé issu du dossier d'enregistrement REACH, concentrations non analysées)
 - ✓ **Espèce étudiée** : rat (souche non précisée)
 - ✓ **Conditions expérimentales** : les animaux ont été exposés à des vapeurs de chlorobenzène à concentration saturante. Les vapeurs ont été générées en faisant passer un flux d'air de 200 L/h à travers du chlorobenzène maintenu à 20°C. Les concentrations en chlorobenzène n'ont pas été analysées.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : concentrations nominales à saturation (51 mg/L (11 220 ppm) à 2 minutes, 65 mg/L (14 300 ppm) à 30 minutes et 60 mg/L (13 200 ppm) à 120 minutes, aucune donnée à 8 minutes).
 - ✓ **Temps d'exposition** : 2 - 8 - 30 - 120 minutes
 - ✓ **Temps d'observation** : 7 jours
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 3
 - ✓ **Lot témoin** : -
 - ✓ **Résultats** : Peu de temps après l'exposition, les animaux étaient très agités. Deux minutes plus tard, ils ont présenté des convulsions et une hypersalivation. Les animaux ont ensuite présenté une narcose. L'examen macroscopique a mis en évidence la présence de sang dans les poumons et une pneumonie chez la majorité des animaux exposés. Aucune mortalité n'a été rapportée à 2 minutes d'exposition. En revanche, des morts ont été observés pour des durées d'exposition supérieures : 1/6 à 8 minutes, 3/6 à 30 minutes (27-30 minutes) et 5/6 à 120 minutes (55-120 minutes).
- **Etude N°5 du dossier d'enregistrement REACH, 1978 - Cotation 4** (Protocole similaire aux lignes directrices OCDE, antérieure aux BPL, étude source non disponible, résumé issu du dossier d'enregistrement REACH, concentrations non analysées)
 - ✓ **Espèce étudiée** : rat (souche non précisée)
 - ✓ **Conditions expérimentales** : les animaux ont été exposés à des vapeurs de chlorobenzène à concentration saturante. Les vapeurs ont été générées en faisant passer un flux d'air de 200 L/h à travers du chlorobenzène maintenu à 20°C. Les concentrations en chlorobenzène n'ont pas été analysées.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : concentration à saturation (64,1 mg/l (14 080 pm) à 10 minutes, 72,3 mg/L (15 906 ppm) à 30 minutes et 63 mg/L (13 860 ppm) à 60 minutes).
 - ✓ **Temps d'exposition** : 10 - 30 - 60 minutes
 - ✓ **Temps d'observation** : 14 jours
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 3 rats par sexe pour les durées de 30 et 60 minutes et 6 rats par sexe pour la durée de 10 minutes
 - ✓ **Lot témoin** : -
 - ✓ **Résultats** : Une respiration intermittente et une perte de réflexe ont été observées dans les 3-4 premières minutes d'exposition. À la fin de l'exposition, une respiration accélérée a été rapportée. Aucune mortalité n'a été rapportée à 10 minutes d'exposition. En revanche, des morts ont été observés pour des durées d'exposition supérieures : 1/6 à 30 minutes et 2/6 à 60 minutes. Une dilatation cardiaque et une hyperémie ont été observés chez les rats morts.

- **Eitingon et Ulanova, 1975 - Cotation 4** (étude source non disponible en russe, résumé issu du dossier d'enregistrement REACH, aucun détail sur les conditions expérimentales, antérieure aux BPL)
Une CL₅₀ de 18 mg/L (3 960 ppm) est rapportée (durée d'exposition non précisée).
- **Goetzmann, 1904 - Cotation 4** (étude source non disponible, en allemand, résumé issu du dossier d'enregistrement REACH, aucun détail sur les conditions expérimentales, antérieure aux BPL)
Aucun effet n'a été rapporté chez des rats exposés à 1 - 3 mg/L (220 - 660 pm) pendant plusieurs heures. Des tremblements et des spasmes ont été observés à des concentrations de 11 - 13 mg/L (2 420 - 2 860 ppm) pendant 7 heures. Enfin, des effets létaux ont été constatés à la concentration de 17 mg/L (3 740 ppm) pendant 7 heures.

6.1.1.2 SOURIS

- **Bonnet et al., 1979 - Cotation 2** (Etude de bonne qualité, protocole similaire aux lignes directrices OCDE, antérieure aux BPL, peu de détail sur les résultats expérimentaux)
 - ✓ **Espèce étudiée** : souris OF₁
 - ✓ **Conditions expérimentales** : Les animaux sont exposés en corps entier à des vapeurs de chlorobenzène dans des cellules à atmosphère contrôlée de 200 litres traversées par un flux d'air laminaire régulé en température et en humidité. Le débit de l'air alimentant chaque chambre d'exposition peut être réglé de 0 à 40 m³/heure. Des micro-pompes, à débit variable, font progresser le chlorobenzène liquide jusqu'à l'injecteur placé à l'entrée de la chambre d'exposition dans le flux d'air. Le chauffage de cet injecteur à l'aide d'un thermostat assure la vaporisation du chlorobenzène. Des échantillons d'atmosphères, prélevés toutes les 3 minutes dans les chambres d'exposition, ont été analysés par un dispositif automatique de chromatographie en phase gazeuse.
Durant l'exposition, les rats sont observés fréquemment afin de noter les signes cliniques. Un examen macroscopique des principaux organes (notamment les poumons, le foie et les reins) a été réalisé. En cas de lésions observables, des prélèvements ont été pratiqués afin de réaliser une analyse histopathologique.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 1 515 - 1 570 - 1 735 - 1 790 - 1 965 - 2 000 - 2105 - 2 185 - 2 380 - 2 790 - 2 800 - 2 825 ppm
 - ✓ **Temps d'exposition** : 6 heures
 - ✓ **Temps d'observation** : 14 jours
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 25 souris femelles
 - ✓ **Lot témoin** : -

- ✓ **Résultats** : Les données de mortalité ont été déterminées par lecture graphique et sont présentées dans le tableau ci-après. La CL₅₀ déterminée par les auteurs est de 1 886 ppm [IC95 % : 1 781-1 980] pour 6 heures d'exposition. L'équation Probit est la suivante : $-17,06 + 6,734 \times \log C$.

Concentration (ppm)	Mortalité
1 515	5 / 25
1 570	6 / 25
1 735	12 / 25
1 790	8 / 25
1 790	13 / 25
1 965	10 / 25
2 000	12 / 25
2 000	17 / 25
2 105	19 / 25
2 185	20 / 25
2 380	16 / 25
2 790	22 / 25
2 800	24 / 25
2 825	19 / 25

- **Sanotsky et Ulanova, 1975 - Cotation 4** (très peu de détails sur le protocole et les conditions expérimentales, étude source non disponible en russe)
 - ✓ **Espèce étudiée** : souris (souche non précisée)
 - ✓ **Conditions expérimentales** : -
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : non précisées
 - ✓ **Temps d'exposition** : 2 heures
 - ✓ **Temps d'observation** : non précisé
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : non précisés
 - ✓ **Lot témoin** : -
 - ✓ **Résultats** : Pour 2 heures d'exposition, les auteurs rapportent une CL₅₀ de 4 070 ppm, une CL₁₆ de 2 244 ppm et une CL₈₄ de 7 832 ppm.

6.1.1.3 COBAYES

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

6.1.2 CHEZ LE LAPIN

- **Rozenbaum et al., 1947 - Cotation 4** (très peu de détails sur le protocole et les conditions expérimentales, étude source non disponible en russe)
 - ✓ **Espèce étudiée** : lapin
 - ✓ **Conditions expérimentales** : -
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 110 - 220 - 550 - 660 ppm
 - ✓ **Temps d'exposition** : 240 minutes
 - ✓ **Temps d'observation** : 14 jours

- ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : sexe et nombre d'animaux non précisé
- ✓ **Lot témoin** : -
- ✓ **Résultats** : Aucune mortalité n'a été rapportée pour les concentrations de 110 et 220 ppm. En revanche, l'ensemble des animaux exposés à 550 et 660 ppm sont morts.

6.1.3 CHEZ LE CHIEN

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

6.1.4 CHEZ LES PRIMATES NON HUMAINS

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

6.2 ETUDE DES EFFETS NON LETAUX

6.2.1 CHEZ LES RONGEURS : RAT, SOURIS ET COBAYES

6.2.1.1 RATS

- **UBTL, 1978 - Cotation 2** (étude de bonne qualité, protocole similaire aux lignes directrices OCDE, antérieure aux BPL)
 - ✓ **Espèce étudiée** : rat Sprague Dawley
 - ✓ **Conditions expérimentales** : Les animaux ont été exposés en corps entier à des vapeurs de chlorobenzène dans une chambre d'exposition de 1260 litres. Les vapeurs ont été générées en injectant du chlorobenzène dans un tube en acier inoxydable enroulé autour d'un cylindre en aluminium à température contrôlée. Les vapeurs ainsi générées sont ensuite transférées vers la chambre d'exposition par un débit d'azote déterminé afin d'atteindre la concentration désirée. Les concentrations de chlorobenzène dans la chambre d'exposition ont été mesurées par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme.

Les signes cliniques et le comportement général des animaux ont été observés quotidiennement avant, pendant et après l'exposition. Les animaux ont été pesés avant l'exposition, immédiatement après, puis au jour 2, 5, 9 et 14 post-exposition. Un examen macroscopique a été réalisé chez tous les animaux ainsi qu'un examen histopathologique.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 2 990 ± 53 ; 5 850 ± 1 350 ; 7 970 ± 355 ppm (analytiques)
 - ✓ **Temps d'exposition** : 30 minutes
 - ✓ **Temps d'observation** : 14 jours
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 5
 - ✓ **Lot témoin** : oui
 - ✓ **Résultats** : Aucune mortalité n'a été rapportée. Une légère irritation oculaire et nasale (larmolement, écoulement nasal) a été observé quelle que soit la concentration. Une hyperactivité a été observée à la concentration de 2 990 ppm, mais aucune altération de la capacité à s'échapper n'a été observée. À la concentration de 5 850 ppm et 7 970 ppm, la plupart des animaux a présenté une ataxie (dans les 10 minutes) puis une narcose (dans les 25 minutes) et présentait une faible capacité à s'échapper (les animaux ont récupéré rapidement après l'exposition).

- **Frantik et al., 1994 - Cotation 2** (étude de bonne qualité, non BPL, concentrations d'exposition mesurées mais non rapportées)
 - ✓ **Espèce étudiée** : rat albinos
 - ✓ **Conditions expérimentales** : Les animaux ont été exposés en corps entier dans des chambres d'exposition de 80 litres fonctionnant dans des conditions dynamiques. L'exposition a commencé après environ 30 minutes d'acclimatation des animaux. La concentration dans la chambre d'exposition a été mesurée par chromatographie en phase gazeuse.
Immédiatement après l'exposition, les animaux ont reçu une courte impulsion électrique à travers des électrodes auriculaires.
La plupart des animaux a subi trois ou quatre expositions à diverses concentrations de chlorobenzène, les intervalles entre les expositions étant d'au moins 3 semaines. Pendant cet intervalle, chaque animal a été examiné deux fois.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : non précisées
 - ✓ **Temps d'exposition** : 4 heures
 - ✓ **Temps d'observation** : -
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 4 mâles
 - ✓ **Lot témoin** : oui (4 mâles)
 - ✓ **Résultats** : Afin d'évaluer la neurotoxicité du chlorobenzène, les auteurs ont déterminé la durée de l'extension tonique des membres postérieurs suite à une stimulation électrique. Une concentration induisant une diminution de la durée de l'extension tonique de 8 à 5 secondes (diminution de 37,5 % de la réponse neurologique) de 611 ppm a été rapportée (IC90 % : 538-684 ppm). La pente était de 0,061% / ppm. Les auteurs ont signalé qu'aucun signe d'altération de l'activité locomotrice normale ou d'excitation comportementale à la concentration de 611 ppm.

- **BASF, 1960 - Cotation 4** (étude source non disponible, résumé issu du dossier d'enregistrement REACH, aucun détail sur les conditions expérimentales, antérieure aux BPL)
 - ✓ **Espèce étudiée** : rat (souche non précisée)
 - ✓ **Conditions expérimentales** : -
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : concentration à saturation (non précisée)
 - ✓ **Temps d'exposition** : 2 minutes
 - ✓ **Temps d'observation** : -
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 6
 - ✓ **Lot témoin** : -
 - ✓ **Résultats** : Aucune mortalité n'a été observée.

- **BASF, 1979 - Cotation 4** (étude source non disponible, résumé issu du dossier d'enregistrement REACH, aucun détail sur les conditions expérimentales, antérieure aux BPL)
 - ✓ **Espèce étudiée** : rat (souche non précisée)
 - ✓ **Conditions expérimentales** : -
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : concentration à saturation (non précisée)
 - ✓ **Temps d'exposition** : 10 minutes
 - ✓ **Temps d'observation** : -
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : -
 - ✓ **Lot témoin** : -

✓ **Résultats** : Aucune mortalité n'a été observée.

- **Hoechst, 1981 - Cotation 4** (étude source non disponible, en allemand, résumé issu du dossier d'enregistrement REACH, aucun détail sur les conditions expérimentales, antérieure aux BPL)

Aucun effet n'a été rapporté chez des rats Wistar exposés à 1,83 à 4,66 mg/L (402 à 1 025 ppm) de chlorobenzène pendant 7 heures.

6.2.1.2 SOURIS

- **Frantik et al., 1994 - Cotation 2** (étude de bonne qualité, non BPL, concentrations d'exposition inconnues)

✓ **Espèce étudiée** : souris (souche H)

✓ **Conditions expérimentales** : Les animaux ont été exposés en corps entier dans des chambres d'exposition de 80 litres fonctionnant dans des conditions dynamiques. L'exposition a commencé après environ 30 minutes d'habituation des animaux. La concentration dans la chambre d'exposition a été mesurée par chromatographie en phase gazeuse.

Immédiatement après l'exposition, les animaux ont reçu une courte impulsion électrique à travers des électrodes auriculaires.

La plupart des animaux a subi trois ou quatre expositions à diverses concentrations de solvants, les intervalles entre les expositions étant d'au moins 3 semaines. Pendant cet intervalle, chaque animal a été examiné deux fois.

✓ **Concentrations d'exposition** : non précisée

✓ **Temps d'exposition** : 2 heures

✓ **Temps d'observation** : -

✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 8 femelles

✓ **Lot témoin** : oui (8 femelles)

✓ **Résultats** : Afin d'évaluer la neurotoxicité du chlorobenzène, les auteurs ont déterminé la durée de l'extension tonique des membres postérieurs suite à une stimulation électrique. Une concentration induisant une diminution de 30 % de la durée de l'extension tonique de 610 ppm (IC90 % : 320-900 ppm) a été rapportée. La pente était de 0,041 % / ppm. Les auteurs ont signalé qu'aucun signe d'altération de l'activité locomotrice normale ou d'excitation comportementale n'a été observé à la concentration de 610 ppm.

- **De Ceaurriz et al., 1983 - Cotation 2** (Etude de bonne qualité, non BPL)

✓ **Espèce étudiée** : souris OF₁

✓ **Conditions expérimentales** : Les animaux ont été exposés en corps entier dans des chambres d'exposition de 200 litres fonctionnant dans des conditions dynamiques, maintenues en pression négative. Le passage de chlorobenzène à travers un injecteur chauffé assure sa vaporisation. Les vapeurs ont ensuite été diluées avec de l'air afin d'atteindre la concentration souhaitée avant d'entrer la chambre d'exposition. Les concentrations en chlorobenzène ont été surveillées en continu par chromatographie en phase gazeuse.

A la fin de l'exposition, les souris ont été soumises à un test de nage forcée. Chaque souris est placée à l'intérieur d'un cylindre de verre vertical dans une cage contenant 10 cm d'eau à 21-23°C. La durée totale d'immobilité observée au cours des 3 premières minutes après avoir plongé la souris dans l'eau a été mesurée (une souris a été jugée immobile lorsqu'elle a cessé de se débattre et est restée flottante passivement dans l'eau en position semi-horizontale ne faisant que les mouvements nécessaires pour garder sa tête au-dessus de l'eau).

- ✓ **Concentrations d'exposition** : 0 - 650 - 785 - 875 - 1 000 ppm
 - ✓ **Temps d'exposition** : 4 heures
 - ✓ **Temps d'observation** : -
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 10 mâles
 - ✓ **Lot témoin** : oui (10 mâles)
 - ✓ **Résultats** : Une diminution significative de la durée d'immobilité a été constatée : -28 %, -45 %, -53 % et -82 % pour les concentrations respectives de 650, 785, 875 et 1 000 ppm. La concentration associée à une diminution de 50 % de l'immobilité a été estimée par les auteurs à 804 ppm (IC95 % : 718-887 ppm).
- **De Ceaurriz et al., 1981 - Cotation 2** (Etude de bonne qualité, non BPL, concentrations d'exposition inconnues)
 - ✓ **Espèce étudiée** : souris OF₁
 - ✓ **Conditions expérimentales** : Les animaux ont été exposés « tête seule » dans des chambres d'exposition de 200 litres fonctionnant dans des conditions dynamiques. Le passage de chlorobenzène à travers un injecteur chauffé assure la vaporisation du chlorobenzène. Les vapeurs ont ensuite été diluées avec de l'air à la concentration finale avant d'entrer dans la chambre d'exposition. Les concentrations en chlorobenzène ont été surveillées en continu par chromatographie en phase gazeuse. La fréquence respiratoire a été déterminée en continu à l'aide d'un pléthysmographe (avant et pendant l'exposition).
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 4 concentrations (valeurs inconnues)
 - ✓ **Temps d'exposition** : 5 minutes
 - ✓ **Temps d'observation** : -
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 6 mâles
 - ✓ **Lot témoin** : non
 - ✓ **Résultats** : Les auteurs ont déterminé une concentration de chlorobenzène qui induisait une diminution de 50 % de la fréquence respiratoire (RD₅₀) de 1 054 ppm.

6.2.1.3 COBAYES

- **UBTL, 1978 - Cotation 2** (étude de bonne qualité, protocole similaire aux lignes directrices OCDE, antérieure aux BPL)
 - ✓ **Espèce étudiée** : cobaye
 - ✓ **Conditions expérimentales** : Les animaux ont été exposés en corps entier à des vapeurs de chlorobenzène dans une chambre d'exposition de 1260 litres. Les vapeurs ont été générées en injectant du chlorobenzène dans un tube en acier inoxydable enroulé autour d'un cylindre en aluminium à température contrôlée. Les vapeurs ainsi générées sont ensuite transférées vers la chambre d'exposition par un débit d'azote déterminé afin d'atteindre la concentration désirée. Les concentrations de chlorobenzène dans la chambre d'exposition ont été mesurées par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme.

Les signes cliniques et le comportement général des animaux ont été observés quotidiennement avant, pendant et après l'exposition. Les animaux ont été pesés avant l'exposition, immédiatement après, puis au jour 2, 5, 9 et 14 post-exposition. Un examen macroscopique a été réalisé chez tous les animaux ainsi qu'un examen histopathologique.

- ✓ **Concentrations d'exposition** : 2 990 ± 53 ; 5 850 ± 1 350 ; 7 970 ± 355 ppm (analytiques)
- ✓ **Temps d'exposition** : 30 minutes
- ✓ **Temps d'observation** : 14 jours
- ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 5
- ✓ **Lot témoin** : -
- ✓ **Résultats** : Aucune mortalité n'a été rapportée. Une légère irritation oculaire et nasale (larmolement, écoulement nasal) a été observé quelle que soit la concentration. Une hyperactivité a été observée à la concentration de 2 990 ppm, mais aucune altération de la capacité à s'échapper n'a été observée. À la concentration de 5 850 ppm et 7 970 ppm, la plupart des animaux ont présenté une ataxie (dans les 10 minutes) puis une narcose (dans les 15 minutes) et présentaient une faible capacité à s'échapper.

6.2.2 CHEZ LE LAPIN

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

6.2.3 CHEZ LE CHIEN

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

6.2.4 CHEZ LES PRIMATES NON HUMAIN

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

7 ANALYSE DES DONNEES DE TOXICITE

7.1 ANALYSE DES DONNEES DE MORTALITE

7.1.1 ETUDES QUALITATIVES

Deux études répondant à des critères de qualité pertinents correspondant aux conditions d'exposition accidentelle (espèces, conditions expérimentales) et de résultats ont été retenues. Ces études sont les suivantes :

Etudes (auteurs)	Espèce animale	Cotation	Justification
Bonnet <i>et al.</i> , 1982	Rat Sprague Dawley	2	Etude de bonne qualité, protocole similaire aux lignes directrices OCDE, antérieure aux BPL, peu de détail sur les résultats expérimentaux [†]
Bonnet <i>et al.</i> , 1979	Souris OF ₁	2	Etude de bonne qualité, protocole similaire aux lignes directrices OCDE, antérieure aux BPL, peu de détail sur les résultats expérimentaux [†]

[†] : les résultats sont présentés sous forme graphique, avec toutefois assez de résolution (ou précision) pour permettre la détermination du nombre de mort/dose

L'étude de Bonnet *et al.*, 1982 a été réalisée chez des rats (12 mâles par lot) exposés à 5 concentrations (de 2 000 à 3 225 ppm) pendant 6 heures. La CL₅₀ déterminée par les auteurs est de 2 965 ppm [IC95 % : 2 787-3 169] pour 6 heures d'exposition.

L'étude de Bonnet *et al.*, 1979 a été réalisée chez des souris (25 femelles par lot) exposées à 12 concentrations (de 1 515 à 2 825 ppm) pendant 6 heures. La CL₅₀ déterminée par les auteurs est de 1 886 ppm [IC95% : 1 781-1 980] pour 6 heures d'exposition.

Les données de mortalité de ces deux études mettent en évidence une dose-réponse et sont discutées dans l'analyse quantitative ci-dessous.

7.1.2 ANALYSE QUANTITATIVE

Cette analyse quantitative a été effectuée à partir des études retenues en § 7.1.1.

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

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

p est donc la probabilité qu'un individu choisi au hasard et exposé à une concentration C de

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

substance pendant un temps τ présente une réponse (mortalité). L'hypothèse de ce modèle est que la tolérance d'un individu à une substance chimique est distribuée selon une loi Normale au sein de la population générale.

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

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

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

B : le nombre de groupe d'animaux (ou d'individus)

C_i : la concentration d'exposition des animaux du groupe i

b_i : le nombre d'animaux (ou d'individus) dans le groupe i et exposés à la concentration C_i

y_i : le nombre d'animaux (ou d'individus) affectés par le traitement parmi les n_i exposés à la concentration C_i

τ_i : le temps d'exposition du groupe i .

Sachant qu'un seul temps d'exposition est disponible, le logiciel probit permet d'obtenir une estimation de la valeur des CL_{50} , CL_{05} et CL_{01} pour ce temps d'exposition. Les valeurs sont données en annexe.

L'analyse a été effectuée à l'aide du modèle Probit BMD couplée avec la loi de Haber en choisissant « n » = 1 pour l'extrapolation aux durées d'exposition plus importantes, et « n » = 3 pour l'extrapolation aux plus courtes durées d'exposition, comme cela est préconisé lorsqu'une seule durée d'exposition est disponible.

Le calcul des CL_{50} , CL_{05} et CL_{01} en fonction du temps d'exposition, s'est basé sur l'estimation des paramètres de régression (m , μ et σ) ainsi obtenus par une analyse bayésienne. Les intervalles de confiance sont déterminés sous l'hypothèse d'une fonction de vraisemblance binomiale (Finney, 1971). Les annexes 2 et 3 donnent les résultats obtenus par le logiciel probit chez les rats et les souris respectivement.

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

L'équation probit établie pour l'étude de Bonnet *et al.*, 1982 chez le rat, est la suivante :

$$Y = - 37,17 + 4,655 \log(C)$$

L'équation probit établie pour l'étude de Bonnet *et al.*, 1979 chez la souris, est la suivante :

$$Y = - 22,68 + 3,004 \log(C)$$

Y est une fonction de l'équation probit.

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

Concentrations létales estimées :

Le tableau ci-après rapporte les concentrations létales 1 %, 5 % et 50 % estimées à partir des données de mortalité des études de Bonnet et al. (1979, 1982) chez le rat et la souris :

Durée d'exposition (min)	CL ₀₁ (ppm)		CL ₀₅ (ppm)		CL ₅₀ (ppm)	
	Bonnet (1982) RATS	Bonnet (1979) SOURIS	Bonnet (1982) RATS	Bonnet (1979) SOURIS	Bonnet (1982) RATS	Bonnet (1979) SOURIS
1	12 670	6 234	14 670	7 822	20 890	13 520
10	5 882	2 894	6 810	3 631	9 696	6 278
20	4 669	2 297	5 405	2 882	7 696	4 983
30	4 079	2 006	4 722	2 517	6 723	4 353
60	3 237	1 592	3 748	1 998	5 336	3 455
120	2 569	1 264	2 974	1 586	4 235	2 742
240	2 039	1 003	2 361	1 259	3 361	2 176
480	1 336	657	1 547	825	2 202	1 426

D'après le tableau ci-dessus, il apparaît que la souris est l'espèce la plus sensible. Les concentrations létales 1 % et 5 % sont deux fois plus basses que chez le rat.

Conformément à la méthodologie française de détermination de valeurs seuils de toxicité aiguë, l'espèce la plus sensible est retenue pour l'analyse quantitative. Ainsi, il est proposé de se baser sur les données de mortalité rapportées chez les souris dans l'étude de Bonnet *et al* (1979) pour la détermination des seuils des effets létaux.

7.2 ANALYSE DES EFFETS NON LETAUX

7.2.1 SYNTHÈSE DES EFFETS NON LETAUX CHEZ L'HOMME

Concentration	Temps (min)	Effets	Références
0,1 mg.m ⁻³ (0,02 ppm)	Non précisé	Aucun effet	Izmerov <i>et al.</i> , 1988
0,2 mg.m ⁻³ (0,04 ppm)		Modifications de l'activité électrique cérébrale	
60 ppm	420	Odeur désagréable, somnolence, maux de tête, douleur lancinante dans les yeux et maux de gorge	Ogata <i>et al.</i> , 1991
9,6 ppm	5 jours (8 h/j)	Aucun effet rapporté à l'issue du premier jour d'exposition	Knecht et Woitowitz, 2000
5 - 10 mL	Non précisé	Perte de réflexes, perte de conscience et cyanose (après exposition par voie orale/inhalation)	Reich, 1934

7.2.2 SYNTHÈSE DES EFFETS NON LÉTAUX CHEZ L'ANIMAL

Concentration (ppm)	Temps (min)	Effets	Références [cotation de Klimisch]
1 054	5	Diminution de 50 % de la fréquence respiratoire	De Ceaurriz <i>et al.</i> , 1981 (souris) [Cotation 2]
2 990	30	Légère irritation oculaire et nasale	UBTL, 1978 (rats) [Cotation 2]
5 850	20	Ataxie	
	25	Narcose	
7 970	10	Ataxie	
	25	Narcose	
2 990	30	Irritation oculaire et nasale	
5850	30	Narcose	
7 980	10	Ataxie	
	15	Narcose	
610	120	Diminution de 30 % de la durée de l'extension tonique (suite à une stimulation)	Frantik <i>et al.</i> , 1994 (souris) [Cotation 2]
611	240	Diminution de la durée de l'extension tonique (suite à une stimulation) de 8 à 5 secondes	Frantik <i>et al.</i> , 1994 (rats) [Cotation 2]
650	240	Diminution de la durée d'immobilité de 28 % dans le test de nage forcée	De Ceaurriz <i>et al.</i> , 1983 (souris) [Cotation 2]
785		Diminution de la durée d'immobilité de 45 % dans le test de nage forcée	
875		Diminution de la durée d'immobilité de 53 % dans le test de nage forcée	
1 000		Diminution de la durée d'immobilité de 82 % dans le test de nage forcée	

8 REVUE DES RESULTATS

- Données expérimentales chez l'animal

Les effets suivants ont été rapportés dans les études de toxicité aiguë disponibles : irritation oculaire et nasale, hypotonie, somnolence, narcose, tremblements et contractions musculaires. Les CL₅₀ suivantes ont été rapportées pour 6 heures d'exposition : 2 965 ppm chez le rat mâle (Bonnet *et al.*, 1982) et 1 886 ppm chez la souris femelle (Bonnet *et al.*, 1979). Aucun effet léthal n'a été observé chez le cobaye exposé à 7 970 ppm pendant 30 minutes (UBTL, 1978).

- Exposition accidentelle chez l'homme

Lors d'exposition accidentelle chez l'homme, le chlorobenzène induit des maux de tête, une somnolence, une irritation oculaire et des voies respiratoires, une incoordination et une perte de connaissance.

- Métabolisme

Le chlorobenzène est dans un premier temps métabolisé par le cytochrome P450 (principalement 2E1) en chlorobenzène-3,4-époxyde (majoritairement), en chlorobenzène-2,3-époxyde et 3-chlorophénol. Les époxydes sont ensuite métabolisés par la glutathion-transférase en dérivés d'acide mercapturique hydrosolubles et par l'époxyde hydratase (via le dihydrodihydroxychlorobenzène) en chlorocathéchols et chlorophénols. Les chlorophénols et chlorocathéchols peuvent être éliminés dans l'urine directement ou après sulfo/glucoro-conjugaison (ATSDR, 2020).

- Mécanisme d'action

Une exposition aiguë par inhalation au chlorobenzène entraîne une irritation et une dépression du système nerveux central. Il a été montré chez l'animal que la concentration de chlorobenzène dans le cerveau était corrélée aux effets dépressifs sur le système nerveux central. La neurotoxicité du chlorobenzène semble liée à son action directe sur les cellules neuronales, peut-être par interactions avec des protéines-canaux membranaires. Par ailleurs, des études de métabolisme ont montré que les effets toxiques hépatiques et rénaux (observés pour des expositions répétées) étaient dus aux métabolites réactifs (époxydes). En cas de déplétion des réserves en glutathion (pour des expositions répétées), les métabolites époxydes peuvent alors plus facilement se lier de manière covalente aux protéines ou à l'ADN (ATSDR, 2020 ; NRC, 2012).

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

En cas d'exposition aiguë par inhalation, le chlorobenzène induit des effets systémiques sur le système nerveux central. Ces effets varient selon la concentration et la durée d'exposition. Il peut s'agir de légers effets pour de faibles doses jusqu'à une narcose voire la mort (en cas de paralysie respiratoire) pour de fortes doses.

Comparativement aux souris et aux rats, le métabolisme du chlorobenzène est plus élevé chez l'homme et la formation de liaison covalente est plus faible (Nedelcheva *et al.*, 1998). Comme indiqué ci-dessus, la neurotoxicité du chlorobenzène semblerait liée à son action directe sur les cellules neuronales (par interactions avec des protéines-canaux membranaires). De ce fait, l'homme ayant un métabolisme plus élevé, il serait moins sensible que le rat ou la souris. Toutefois, le mécanisme d'action n'étant pas encore clairement établi, un facteur inter-espèce de 3 est retenu pour extrapoler les données expérimentales de l'animal à l'homme.

8.2 SEUILS D'EFFETS LÉTAUX CHEZ L'HOMME

L'annexe 2 donne les CL₀₁, CL₀₅ et CL₅₀ pour le chlorobenzène ainsi que leurs intervalles de confiance et pour des durées d'exposition de 1, 10, 20, 30, 60, 120, 240 et 480 minutes. Les valeurs obtenues pour les CL₀₁ et CL₀₅ à partir des données de mortalité de l'étude de Bonnet *et al.*, (1979) chez la souris sont les suivantes :

CL ₀₁ (ppm)		CL ₀₅ (ppm)	
Temps (min)		Temps (min)	
1	6 234	1	7 822
10	2 894	10	3 631
20	2 297	20	2 882
30	2 006	30	2 517
60	1 592	60	1 998
120	1 264	120	1 586
240	1 003	240	1 259
480	657	480	825

Compte tenu de la nature des effets (systémiques) induits par l'inhalation de chlorobenzène et du mécanisme d'action, il est proposé de retenir un facteur d'incertitude de 3 pour extrapoler les données expérimentales de l'animal à l'homme. Aucun facteur intra-espèce supplémentaire n'est ajouté pour dériver les seuils des effets létaux, comme indiqué dans la méthodologie Acutex. Ces valeurs sont proposées pour la fixation des seuils des effets létaux en cas d'émission accidentelle de chlorobenzène :

TEMPS (min)	SELS	
	mg.m ⁻³	ppm
1	12 254	2 607
10	5 689	1 210
20	4 515	961
30	3 943	839
60	3 130	666
120	2 485	529
240	1 972	420
480	1 292	275

TEMPS (min)	SPEL	
	mg.m ⁻³	ppm
1	9 767	2 078
10	4 534	965
20	3 599	766
30	3 143	669
60	2 494	531
120	1 980	421
240	1 571	334
480	1 030	219

$$Y = - 22,68 + 3,004 \log(C)$$

8.3 SEUILS DES EFFETS IRREVERSIBLES

Aucune étude ne met en évidence d'effet irréversible à la suite d'une exposition unique par inhalation au chlorobenzène. Les valeurs seuils d'effets irréversibles sont essentielles dans le cadre de la maîtrise de l'urbanisation pour l'élaboration des Plans de Prévention des Risques Technologiques ou encore pour le calcul des taux d'atténuation. Ainsi, il est proposé de pallier l'absence de SEI en utilisant la méthode calculatoire de la méthodologie française. Cette méthode permet le calcul des seuils d'effets irréversibles en appliquant un facteur 3 (considérant un effet local) ou 9 (considérant un effet systémique) au tiers de la CL_{01%}. Compte tenu de l'incertitude sur le mécanisme d'action, le chlorobenzène induisant entre autres une dépression du système nerveux central (effet systémique), un facteur de 9 est ainsi appliqué au tiers de la CL₀₁ : SEI = 1/3 CL_{01%} x 1/9.

Les seuils d'effets irréversibles calculatoires (SEIc) suivants sont proposés pour le chlorobenzène :

TEMPS (min)	SEIc	
	mg.m ⁻³	ppm
1	1 085	231
10	504	107
20	400	85
30	349	74
60	277	59
120	220	47
240	175	37
480	114	24

8.4 SEUILS DES EFFETS REVERSIBLES

Des effets réversibles ont été observés dans une étude expérimentale chez 5 volontaires sains exposés à 60 ppm pendant 7 heures : somnolence, maux de tête, douleur lancinante dans les yeux et des maux de gorge. Les effets réversibles rapportés chez l'animal parmi les études disponibles concernent des effets plus sévères (narcose, ataxie, ...) et pour des concentrations supérieures, elles ne sont donc pas adaptées à l'élaboration de seuils des effets réversibles.

Il est donc proposé de retenir le point de départ (POD) de 60 ppm (420 minutes) pour la détermination des seuils des effets réversibles en appliquant la loi de Haber avec « n » = 1 pour l'extrapolation aux durées d'exposition plus importantes, et « n » = 3 pour l'extrapolation aux plus courtes durées d'exposition. Un facteur d'incertitude de 3 est retenu afin de prendre en compte la variabilité au sein de la population humaine.

Les seuils d'effets réversibles (SER) suivants sont proposés pour le chlorobenzène :

TEMPS (min)	SER	
	mg.m ⁻³	ppm
1	704	150
10	327	70
20	259	55
30	227	48
60	180	38
120	143	30
240	113	24
480	82	18

8.5 SEUIL DE PERCEPTION

Le chlorobenzène est un liquide incolore, volatil, d'odeur agréable rappelant celle des amandes. La limite de détection olfactive est variable selon les individus de 0,2 à 2 ppm (CNESST, 2002 ; NRC, 2012 ; Ruth, 1986).

9 CONCLUSION

◆ Seuils d'effets létaux

TEMPS (min)	SELS	
	mg.m ⁻³	ppm
1*	12 254	2 607**
10	5 689	1 210
20	4 515	961
30	3 943	839
60	3 130	666
120	2 485	529
240	1 972	420
480	1 292	275

TEMPS (min)	SPEL	
	mg.m ⁻³	ppm
1*	9 767	2 078**
10	4 534	965
20	3 599	766
30	3 143	669
60	2 494	531
120	1 980	421
240	1 571	334
480	1 030	219

$$Y = - 22,68 + 3,004 \log(C)$$

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

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

** Valeur supérieure à 10% de limite inférieure d'explosivité

◆ **Seuils d'effets irréversibles**

TEMPS (min)	SEI	
	mg.m ⁻³	ppm
1*	1 085	231
10	504	107
20	400	85
30	349	74
60	277	59
120	220	47
240	175	37
480	114	24

◆ **Seuils d'effets réversibles**

TEMPS (min)	SER	
	mg.m ⁻³	ppm
1*	704	150
10	327	70
20	259	55
30	227	48
60	180	38
120	143	30
240	113	24
480	82	18

◆ **Seuil de perception**

Le chlorobenzène est un liquide incolore, volatil, d'odeur agréable rappelant celle des amandes. La limite de détection olfactive est variable selon les individus de 0,2 à 2 ppm (1 à 10 mg.m⁻³) (CNESST, 2002 ; NRC, 2012 ; Ruth, 1986).

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

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

10 REFERENCES

- ATSDR** (2020) - Toxicological Profile for Chlorobenzene. *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*.
- BASF** (1960) - Abt. Toxikologie, unveroeffentlichte untersuchung, |(X/44), 24.03.1960. From REACH registration dossier : <https://echa.europa.eu/fr/registration-dossier/-/registered-dossier/1962>.
- BASF** (1979) - Toxikologie, unveroeffentlichte untersuchung,|(78/786), 04.12.1979. From REACH registration dossier : <https://echa.europa.eu/fr/registration-dossier/-/registered-dossier/1962>.
- Bonnet P., Raoult G. and Gradiski D.** (1979) - LC50s of common aromatic hydrocarbons [in French]. *Arch. Mal. Prof.*, **40**, 8-9, 805-810.
- Bonnet P., Morele G., Raoult G., Zissu D. and D. G.** (1982) - Determination of the median lethal concentration of the main aromatic hydrocarbons in the rat. *Arch. Mal. Prof.*, **43**, 3, 461-465.
- CARATEX** (2020) - Base de données CarAtex, Chlorobenzène. *Institut national de recherche et de sécurité*.
- CNESST** (2002) - Commission des normes, de l'équité, de la santé et de la sécurité du travail, Répertoire toxicologique, Chloroforme.
- De Ceaurriz J., Desiles J.P., Bonnet P., Marignac B., Muller J. and Guenier J.P.** (1983) - Concentration-dependent behavioral changes in mice following short-term inhalation exposure to various industrial solvents. *Toxicol Appl Pharmacol*, **67**, 3, 383-389.
- De Ceaurriz J.C., Micillino J.C., Bonnet P. and Guenier J.P.** (1981) - Sensory irritation caused by various industrial airborne chemicals. *Toxicol Lett*, **9**, 2, 137-143.
- Dilley J.V.** (1977) - Toxic Evaluation of Inhaled Chlorobenzene (Monochlorobenzene). Stanford Research Institute, Menlo Park, CA. NTIS PB-276623. .
- Eastman Kodak Co** (1994) - Toxicity and Health Hazard Summary of Chlorobenzene with Cover Letter Dated 04/05/94. Submitted by Eastman Kodak Co, Rochester, NY, to U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. EPA Document No. 86940000289. Microfiche No. OTS0572392. .
- Eitingon A.I. and Ulanova I.P.** (1975) - From REACH registration dossier : <https://echa.europa.eu/fr/registration-dossier/-/registered-dossier/1962>, [Article in russian]. *Gig. Tr. Prof. Zabol.*, **9**, 36-39.
- Etude N°4 du dossier d'enregistrement REACH** (1960) - <https://echa.europa.eu/fr/registration-dossier/-/registered-dossier/1962>.
- Etude N°5 du dossier d'enregistrement REACH** (1978) - <https://echa.europa.eu/fr/registration-dossier/-/registered-dossier/1962>.
- Finney D.J.** (1971) - Probit Analysis. 3rd Edition, Cambridge University Press, Cambridge.
- Frantik E., Hornychova M. and Horvath M.** (1994) - Relative acute neurotoxicity of solvents: isoeffective air concentrations of 48 compounds evaluated in rats and mice. *Environ Res*, **66**, 2, 173-185.
- Goetzmann** (1904) - Diss. Wuerzburg|cited in: Flury, F., Zernik, F. (1931): Schaedliche Gase,|Springer Verlag, Berlin, 131. From REACH registration dossier : <https://echa.europa.eu/fr/registration-dossier/-/registered-dossier/1962>.
- Hoechst A.G.** (1981) - nveroeffentlichte Unters. Ber. 81.0584. From REACH registration dossier : <https://echa.europa.eu/fr/registration-dossier/-/registered-dossier/1962>.
- INRS** (2009) - Fiche toxicologique du Chlorobenzène, fiche n°23. *Institut national de recherche et de sécurité*.
- Izmerov N.F., Vasilenko N.M., Semiletkina N.N. and Timofiyevskaya L.A.** (1988) - Chlorobenzenes (Chlorobenzene, Dichlorobenzene, Trichlorobenzene). Scientific Reviews of Soviet Literature of Toxicity and Hazards of Chemicals No. 108. Moscow: GKNT (Centre for International Projects).

John J.A., Hayes W.C., Hanley T.R., Jr., Johnson K.A., Gushow T.S. and Rao K.S. (1984) - Inhalation teratology study on monochlorobenzene in rats and rabbits. *Toxicol Appl Pharmacol*, **76**, 2, 365-373.

Klimisch H.J. (1988) - The Inhalation Hazard Test; principle and method. *Arch Toxicol*, **61**, 5, 411-416.

Knecht U. and Voitowitz H.J. (2000) - Human toxicokinetics of inhaled monochlorobenzene: latest experimental findings regarding re-evaluation of the biological tolerance value. *Int Arch Occup Environ Health*, **73**, 8, 543-554.

Nair R.S., Barter J.A., Schroeder R.E., Knezevich A. and Stack C.R. (1987) - A two-generation reproduction study with monochlorobenzene vapor in rats. *Fundam Appl Toxicol*, **9**, 4, 678-686.

Nedelcheva V., Gut I., Soucek P. and Frantik E. (1998) - Cytochrome P450 catalyzed oxidation of monochlorobenzene, 1,2- and 1,4-dichlorobenzene in rat, mouse, and human liver microsomes. *Chem Biol Interact*, **115**, 1, 53-70.

NIOSH (1994) - Immediately Dangerous to Life or Health Concentrations (IDLH) - Chlorobenzene. *National Institute for Occupational Safety and Health*.

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

Ogata M., Taguchi T., Hirota N., Shimada Y. and Nakae S. (1991) - Quantitation of urinary chlorobenzene metabolites by HPLC: concentrations of 4-chlorocatechol and chlorophenols in urine and of chlorobenzene in biological specimens of subjects exposed to chlorobenzene. *Int Arch Occup Environ Health*, **63**, 2, 121-128.

Rebert C.S., Schwartz R.W., Svendsgaard D.J., Pryor G.T. and Boyes W.K. (1995) - Combined effects of paired solvents on the rat's auditory system. *Toxicology*, **105**, 2-3, 345-354.

Reich H. (1934) - No information [article in german]. From REACH registration dossier : <https://echa.europa.eu/fr/registration-dossier/-/registered-dossier/1962>. *Schweiz. Med. Wochenschr.*, **10**, 223-224.

Rozenbaum N.D., Blekh R.S., Kremneva S.N., Ginzburg S.L. and Pozhatiskii L.V. (1947) - Use of chlorobenzene as a solvent from the standpoint of industrial hygiene [in Russian]. *Gig. Sanit.*, **12**, 1, 21-24.

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

Sanotsky I.V. and Ulanova L.P. (1975) - Criteria of Safety in Assessing the Danger of Chemical Compounds [in Russian]. Moscow: Meditsina (as cited in Izmerov et al. 1988).

UBTL (1978) - Utah Biomedical Test Laboratory Report on NIOSH Sponsored Inhalation Study for IDLH Values (Final Report) with Cover Letter Dated 10/22/91. Submitted by Shell Oil Company to U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. EPA Document No. TSCATS 88-920000156. Microfiche No. OTS 0534605. . *Utah Biomedical Test Laboratory*.

11 LISTE DES ANNEXES

Repère	Désignation	Nombre de pages
Annexe 1	Critères pour la cotation de Klimisch (1997)	1
Annexe 2	Sortie du logiciel (Bonnet et al., 1982, rats mâles)	5
Annexe 3	Sortie du logiciel (Bonnet et al., 1982, souris femelles)	5

Annexe 1 : Critères pour la cotation de Klimisch (1997)

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

Annexe 2 : Sortie du logiciel (Bonnet et al., 1982, rats mâles)

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

Chemical : Chlorobenzène

Species : Rats SD

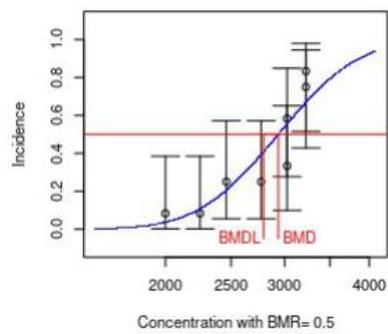
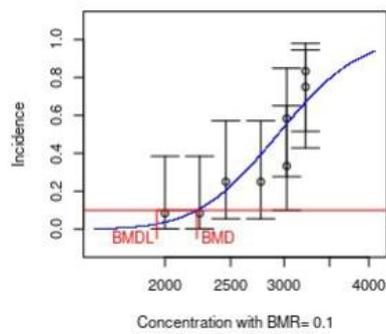
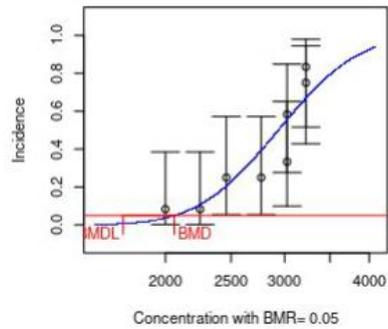
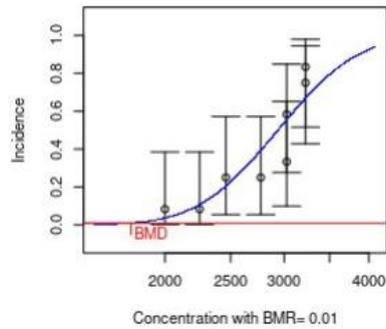
Study reference : Bonnet_1982

Data

#	Concentration	Subjects	Incidence
1	2000	12	1
2	2250	12	1
3	2460	12	3
4	2770	12	3
5	3025	12	4
6	3025	12	7
7	3225	12	9
8	3225	12	10

Parameter Estimates:

Parameter	Estimate	Lower Conf. Limit	Upper Conf. Limit
slope (β)	4.655	3.042	6.417
intercept (α)	-37.17	-51.19	-24.36



Model fit :

Maximum Log Likelihood = -51.48

#	Scaled residuals
1	0.853
2	-0.271
3	0.387
4	-1.01
5	-1.55
6	0.198
7	0.598
8	1.21

Chi-square (χ^2) = 6.231

Goodness of Fit = 0.3978

Benchmark Dose Computation (Confidence Level = 0.95):

Benchmark Response	BMD	BMDL
0.01	1781	1389
0.05	2062	1732
0.1	2230	1945
0.5	2936	2792

Benchmark Dose Extrapolation (Confidence Level = 0.95):

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

Benchmark Response	Duration	BMD	BMDL
0.01	1	12670	9882
0.01	10	5882	4587
0.01	20	4669	3640
0.01	30	4079	3180
0.01	60	3237	2524
0.01	120	2569	2003
0.01	240	2039	1590
0.01	480	1336	1042
0.05	1	14670	12320
0.05	10	6810	5719
0.05	20	5405	4539
0.05	30	4722	3965
0.05	60	3748	3147
0.05	120	2974	2498
0.05	240	2361	1983

Benchmark Response	Duration	BMD	BMDL
0.05	480	1547	1299
0.1	1	15860	13840
0.1	10	7362	6423
0.1	20	5844	5098
0.1	30	5105	4453
0.1	60	4052	3535
0.1	120	3216	2805
0.1	240	2552	2227
0.1	480	1672	1459
0.5	1	20890	19860
0.5	10	9696	9220
0.5	20	7696	7318
0.5	30	6723	6393
0.5	60	5336	5074
0.5	120	4235	4027
0.5	240	3361	3197
0.5	480	2202	2094

Annexe 3 : Sortie du logiciel (Bonnet et al., 1982, souris femelles)

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

Chemical : Chlorobenzène

Species : Souris OF1

Study reference : Bonnet_1979

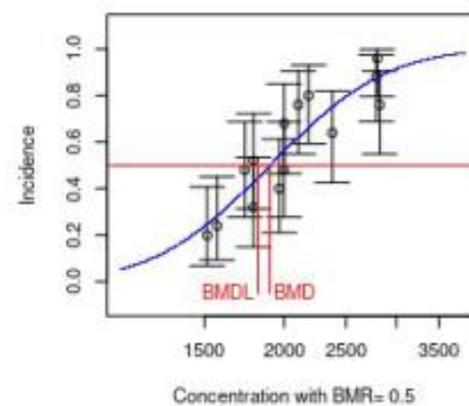
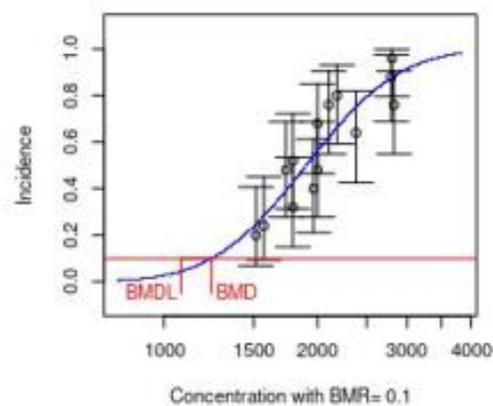
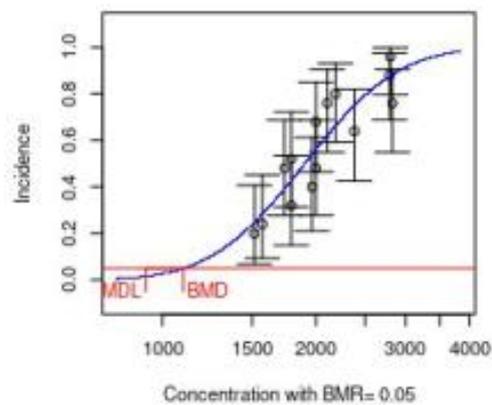
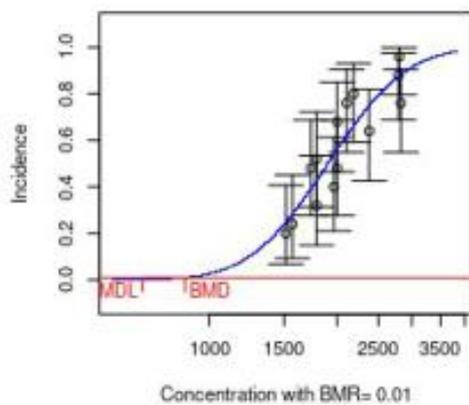
Data

#	Concentration	Subjects	Incidence
1	1515	25	5
2	1570	25	6
3	1735	25	12
4	1790	25	8
5	1790	25	13
6	1965	25	10
7	2000	25	12
8	2000	25	17
9	2105	25	19
10	2185	25	20
11	2380	25	16
12	2790	25	22
13	2800	25	24
14	2825	25	19

Convergence of Parameter Estimation= converged

Parameter Estimates:

Parameter	Estimate	Lower Conf. Limit	Upper Conf. Limit
slope (β)	3.004	2.364	3.662
intercept (α)	-22.68	-27.68	-17.81



Model fit :

Maximum Log Likelihood = -205.4

#	Scaled residuals
1	-0.551
2	-0.474
3	0.904
4	-1.09
5	0.928
6	-1.4
7	-0.811
8	1.2
9	1.44
10	1.46
11	-1.27
12	0.0703
13	1.26
14	-1.91

Chi-square (χ^2) = 18.52

Goodness of Fit = 0.1007

Benchmark Dose Computation (Confidence Level = 0.95):

Benchmark Response	BMD	BMDL
0.01	876.3	696.3
0.05	1100	927.5
0.1	1241	1080
0.5	1901	1818

Benchmark Dose Extrapolation (Confidence Level = 0.95):

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

Benchmark Response	Duration	BMD	BMDL
0.01	1	6234	4953
0.01	10	2894	2299
0.01	20	2297	1825
0.01	30	2006	1594
0.01	60	1592	1265
0.01	120	1264	1004
0.01	240	1003	797.1
0.01	480	657.3	522.2
0.05	1	7822	6598
0.05	10	3631	3063
0.05	20	2882	2431
0.05	30	2517	2124
0.05	60	1998	1685
0.05	120	1586	1338
0.05	240	1259	1062
0.05	480	824.6	695.7
0.1	1	8827	7684
0.1	10	4097	3567
0.1	20	3252	2831

Benchmark Response	Duration	BMD	BMDL
0.1	30	2841	2473
0.1	60	2255	1963
0.1	120	1790	1558
0.1	240	1420	1236
0.1	480	930.7	810.1
0.5	1	13520	12930
0.5	10	6278	6002
0.5	20	4983	4764
0.5	30	4353	4161
0.5	60	3455	3303
0.5	120	2742	2622
0.5	240	2176	2081
0.5	480	1426	1363