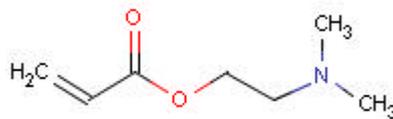




Seuils de Toxicité aiguë

Acrylate de 2-diméthylaminoéthyle (ADAME)

n° CAS : 2439-35-2



Département de Toxicologie et Environnement

Dr. Jean-François Régner
Toxicologue référent

6 Juillet 2006

TABLE DES MATIERES

1. RESUME	3
2. INTRODUCTION.....	6
3. VALEURS OFFICIELLES EXISTANTES.....	8
4. DONNEES DE TOXICITE CHEZ L’HOMME	9
4.1 Données épidémiocliniques	9
4.2 Données expérimentales chez les Volontaires Sains	9
5. DONNEES DE TOXICITE CHEZ L’ANIMAL	10
5.1 Etude des effets létaux	10
5.2 Etude des effets non létaux.....	11
6. ANALYSE DES DONNEES DE TOXICITE.....	12
6.1 Analyse des données de mortalité	12
6.2 Analyse des effets non létaux.....	13
7. REVUE DES RESULTATS.....	15
7.1 Extrapolation des données expérimentales de l'animal à l'homme	15
7.2 Seuils d'effets létaux chez l'homme	15
7.3 Seuils des effets irréversibles	16
7.4 Seuils des effets réversibles	16
7.5 Seuil de perception.....	17
8. CONCLUSION	18
9. REFERENCES	19
10. LISTE DES ANNEXES.....	20

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 du 20 novembre 2003.

Dans ce contexte, ARKEMA propose des "**seuils des effets létaux**" (S.E.L.) et des "**seuils des effets irréversibles**" (S.E.I.) pour l'ADAME.

◆ **Seuils d'effets létaux**

TEMPS (min)	S.E.L. 1%	
	mg/m ³	ppm
1	768690	131625
10	9513	1629
20	2534	434
30	1168	200
60	309	53
120	81	14
240	22	3,8
480	5,8	1

TEMPS (min)	S.E.L. 5%	
	mg/m ³	ppm
1	1068147	182902
10	13216	2263
20	3520	603
30	1623	278
60	432	74
120	117	20
240	29	5
480	8	1,4

$$Y = 2,08 \ln(\text{concentration}) + 3,97 \ln(\text{temps}) - 25,63$$
$$n = 0,524 \quad \text{IC95 [0,439 - 1,47]}$$

Y est une fonction de l'équation probit.

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

◆ **Seuils d'effets irréversibles**

La détermination des seuils d'effets irréversibles (S.E.I.) n'a pas été possible à la vue de l'absence d'étude. Il est proposé 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'ADAME étant considérés comme purement locaux, un facteur par défaut supplémentaire de 1/3 a été aussi retenu :

$$SEI = 1/3 \text{ CL1\%} \times 1/3 = 1/9 \text{ CL1\%}$$

TEMPS (min)	S.E.I.	
	mg/m ³	ppm
1	85410	14625
10	1057	181
20	281	48
30	130	22
60	34	5,9
120	9	1,5
240	2,4	0,4
480	0,6	0,1

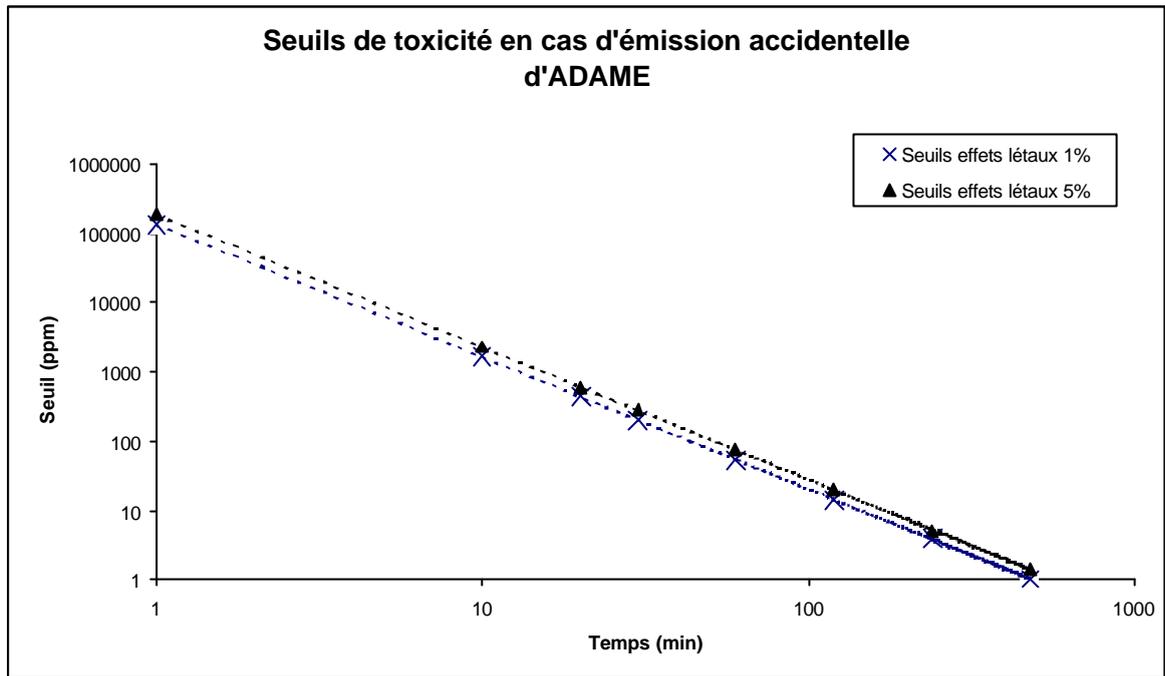
◆ **Seuils d'effets réversibles**

Les données disponibles sont insuffisantes pour définir un seuil d'effets réversibles.

◆ **Seuils de perception**

Pas d'information disponible.

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

Trois types d'effets toxiques ont été définis :

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

Les couples concentration - durée d'exposition associés à ces effets permettent de déterminer les seuils de toxicité aiguë que sont les "**seuils des effets létaux**" (S.E.L.), les "**seuils des effets irréversibles**" (S.E.I.) et les "**seuils des effets réversibles**" (S.E.R.) et le "**seuil de perception**" (S.P.).

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

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

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

le "**seuil de perception**" (S.P.) correspond à la concentration entraînant la détection sensorielle de la substance chimique par la population exposée.

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

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 et consultable sur le site Internet de l'INERIS (www.ineris.fr).

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

Paramètre	Valeur/description	Référence
Nom chimique	Acrylate de diméthylaminoéthyle (ADAME)	OCDE, 2003
Numéro CAS	2439-35-2	OCDE, 2003
Formule chimique	C ₇ H ₁₃ NO ₂	OCDE, 2003
Etat physique	Liquide	OCDE, 2003
Poids moléculaire	143.18 g.mol ⁻¹	OCDE, 2003
Tension de vapeur	68 Pa (20 °C)	OCDE, 2003
Solubilité	24 g/100ml (20 °C)	OCDE, 2003
Température d'ébullition/fusion	172,5°C / -80°C	OCDE, 2003
Point d'éclair	62 °C (coupelle fermée)	ARKEMA, 2005
Limites d'explosibilité	Limite inférieure : 1,3 % en volume	ARKEMA, 2005
Facteurs de conversion à 20°C et 1013 hPa	1 mg/m ³ = 0,171 ppm 1 ppm = 5,84 mg/m ³	

La majorité de l'ADAME produite est convertie industriellement en sel d'ammonium quaternaire. Tous ces sels servent à la fabrication de co-polymères utilisés dans le traitement de l'eau ou l'industrie de la pâte à papier.

VALEURS OFFICIELLES EXISTANTES

Il n'existe pas de valeur officielle publiée de seuils d'effets létaux et irréversibles.

L'ADAME est classé selon la directive D. 67/548/CEE modifiée par D. 2001/59/CE
- Guide pour la classification et l'emballage :

T+ _ TRES TOXIQUE

R26 _ Très toxique par inhalation

R21/22 _ Nocif par contact avec la peau et par ingestion

R35 _ Provoque de graves brûlures

R43 _ Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau

Le "Comité Valeur limite d'exposition professionnelle" d'ARKEMA recommande une VME de 2.9 mg/m³ (0.5 ppm) et une VLE de 5.8 mg/m³ (1 ppm) pour l'ADAME.

3. DONNEES DE TOXICITE CHEZ L'HOMME

3.1 DONNEES EPIDEMIOCLINIQUES

Un cas d'exposition accidentelle a été porté à la connaissance du Département de Toxicologie et Environnement d'ARKEMA.

Le 30-09-1994, en soufflant un circuit d'ADAME, un salarié a reçu une projection violente d'ADAME qui l'a atteint au visage. Selon lui, il a probablement avalé une gorgée de produit et s'est retrouvé dans un nuage de produit. Malgré ses lunettes il a reçu une projection d'ADAME dans les yeux ; situation aggravée par le fait qu'il a dû traverser le nuage de vapeurs pour trouver un point d'eau.

A l'arrivée à l'infirmerie, il présentait une dyspnée avec polypnée, une angoisse intense, des brûlures du visage et de la bouche et des brûlures oculaires. Son état respiratoire c'est amélioré par des bouffées de Bécotide régulièrement administrées.

A l'admission à l'hôpital (moins de 3/4 heure après), le patient présentait un œdème palpébral important l'empêchant de voir, un volumineux œdème des lèvres, un érythème du visage, une dyspnée. La radio pulmonaire et la gazométrie artérielle étaient normales.

Sur le plan respiratoire, la radio pulmonaire est restée normale, la pléthysmographie a montré une augmentation du volume résiduel à 148% des volumes théoriques, mais il n'y a pas eu d'altération des volumes statiques, ni des débits bronchiques. Le transfert du CO en apnée a été normal.

Secondairement, le patient a présenté un épisode d'infection bronchique avec évolution favorable sous traitement antibiotique.

Au niveau des yeux, l'état cornéen immédiat était satisfaisant. Les lésions de la cornée n'ont commencé à apparaître qu'au bout de quelques jours. Début octobre, il existait un œdème très important de la cornée droite et une ulcération centro-cornéenne gauche.

3.2 DONNEES EXPERIMENTALES CHEZ LES VOLONTAIRES SAINS

Pas d'information disponible.

4. DONNEES DE TOXICITE CHEZ L'ANIMAL

4.1 ETUDE DES EFFETS LETAUX

Le détail des conditions expérimentales est donné en Annexes 1, 5 et 6. La cotation de la validité des études selon les critères de classification de Klimisch (Annexe 7) est reportée à la suite de la référence bibliographique (cotation "x") associée à une brève justification de la valeur de l'indice retenue.

4.1.1 CHEZ LES RONGEURS : RAT, SOURIS ET COBAYES

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

Les principaux résultats disponibles sont reportés ci-après :

◆ ARKEMA (1991a) – validité 1 (annexe 4)

Cette étude a été réalisée selon la ligne directrice n°403 de l'OCDE et les BPL.

Quarante rats ont été exposés corps entier par groupe de 5 mâles et 5 femelles à des concentrations d'ADAME comprises entre 0,037 et 0,460 mg/L d'air (6 et 78 ppm) pendant 4 heures. La mortalité des animaux a été suivie pendant 2 semaines. Les premiers et les derniers animaux sont morts respectivement 4 heures et 3 jours après l'exposition. L'auteur a ainsi déterminé une concentration létale 50% par inhalation :

- CL₅₀ : 0,066 mg/L (11 ppm) pour 4 heures.

L'examen anatomo-pathologique a mis en évidence une congestion pulmonaire chez les animaux décédés.

◆ ARKEMA (1991b) – validité 1 (annexe 5)

Cette étude a été réalisée selon la ligne directrice n°403 de l'OCDE et les BPL.

Trente rats ont été exposés par groupe de 5 mâles et 5 femelles en corps entier à des concentrations d'ADAME comprises entre 0,512 et 1,237 mg/L d'air (87 et 211 ppm) pendant 1 heure. La mortalité des animaux a été suivie pendant 2 semaines. Les premiers et les derniers animaux sont morts respectivement 2 heures et 3 jours après l'exposition. L'auteur a ainsi déterminé une concentration létale 50% par inhalation :

- CL₅₀ : 0,972 mg/L (166 ppm) pour 1 heure chez les mâles.
- CL₅₀ : > 1,237 mg/L (> 211 ppm) pour 1 heure chez les femelles.

L'examen anatomo-pathologique a mis en évidence une nécrose et une exudation de la cavité nasale, du larynx et de la trachée chez les animaux morts au cours de

l'exposition. Quelques animaux survivants présentaient une légère hyperplasie de l'épithélium du larynx.

4.1.2 CHEZ LE LAPIN

Il n'existe pas de données de mortalité publiées dans les bases de données bibliographiques et/ou toxicologiques.

4.1.3 CHEZ LE CHIEN

Il n'existe pas de données de mortalité publiées dans les bases de données bibliographiques et/ou toxicologiques.

4.1.4 CHEZ LES PRIMATES NON HUMAINS

Il n'existe pas de données de mortalité publiées dans les bases de données bibliographiques et/ou toxicologiques.

4.2 ÉTUDE DES EFFETS NON LÉTAUX

4.2.1 CHEZ LES RONGEURS : RAT, SOURIS ET COBAYES

Dans l'étude de toxicité aiguë par inhalation/4h chez le rat (ARKEMA, 1991a), la plus faible dose testée 37 mg/m^3 (6,3 ppm) a entraîné de l'irritation oculaire observable 15 min après le début de l'exposition, et de l'irritation respiratoire nettement observable au bout de 2 heures.

4.2.2 CHEZ LE LAPIN

Il n'existe pas de données de toxicité aiguë non létales publiées dans les bases de données bibliographiques et/ou toxicologiques.

4.2.3 CHEZ LE CHIEN

Il n'existe pas de données de toxicité aiguë non létales publiées dans les bases de données bibliographiques et/ou toxicologiques.

4.2.4 CHEZ LES PRIMATES NON HUMAINS

Il n'existe pas de données de toxicité aiguë non létales publiées dans les bases de données bibliographiques et/ou toxicologiques.

5. ANALYSE DES DONNEES DE TOXICITE

5.1 ANALYSE DES DONNEES DE MORTALITE

5.1.1 ETUDES QUALITATIVES

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

- ◆ **ARKEMA (1991a) - validité 1**
- ◆ **ARKEMA (1991b) - validité 1**

Un résumé détaillé de ces études sont présentés en annexe (annexes 5 et 6).

5.1.2 ANALYSE QUANTITATIVE

Cette analyse quantitative a été effectuée à partir des études retenues en § 5.1.1. Le modèle statistique employé est le modèle « probit ». L'analyse probit permet de relier la proportion d'effets (ici mortalité) au niveau d'exposition, caractérisé par une concentration et une durée.

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

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

p est donc la probabilité qu'un individu choisi au hasard et exposé à une concentration C de substance pendant un temps t 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 centrée réduite.

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

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

Nous pouvons alors écrire :

$$\text{CL1\%} = \exp(\mu - 2,33\sigma - m \log(t))$$

$$\text{CL5\%} = \exp(\mu - 1,645\sigma - m \log(t))$$

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

L'analyse a également été effectuée à l'aide du modèle PKPD. Ce modèle, contrairement au modèle log-probit classique, tient compte 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
- t_i : le temps d'exposition du groupe i .

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)].

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

Enfin, la valeur n de la relation de Haber ($C^n \cdot t = k$) 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** $Y = 2,11 \ln(\text{concentration}) + 4,08 \ln(\text{temps}) - 27,49$
 $n = 0,518$ IC95 [0,4 – 0,667]
- **Probit PKPD** $Y = 2,08 \ln(\text{concentration}) + 3,97 \ln(\text{temps}) - 25,63$
 $n = 0,524$ IC95 [0,439 – 1,47]

Y est une fonction de l'équation probit.

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

5.2 ANALYSE DES EFFETS NON LETAUX

5.2.1 SYNTHÈSE DES EFFETS NON LETAUX CHEZ L'HOMME

Un seul cas d'exposition accidentelle a été rapporté. Une irritation sévère de la peau, des muqueuses, de la cornée et des voies respiratoires a été observée.

5.2.2 SYNTHÈSE DES EFFETS NON LETAUX CHEZ L'ANIMAL

Dans l'étude de toxicité aiguë par inhalation/4h (ARKEMA, 1991a), la plus faible dose testée 37 mg/m³ (6,3 ppm) a entraîné de l'irritation oculaire observable 15 min après le début de l'exposition, et de l'irritation respiratoire nettement observable au bout de 2 heures.

REVUE DES RESULTATS

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

Des études de létalité sont disponibles chez l'animal. 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 (ARKEMA, 1991a et 1991b).

Les données épidémiocliniques et expérimentales disponibles chez l'homme et le rat permettent de penser que le mécanisme d'action toxique de cette substance est semblable dans les 2 espèces (l'ADAME 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'ADAME réagit très rapidement au niveau du site d'exposition. L'ensemble de ces éléments permet donc l'extrapolation des données animales à l'homme.

5.4 SEUILS D'EFFETS LETAUX CHEZ L'HOMME

Les études retenues sont donc celles de ARKEMA, 1991a et 1991b réalisée chez le rat. Les calculs des concentrations létales ont été faits avec le logiciel probit standard et le PKPD. Les résultats (annexes 2 et 3) mettent en évidence que les résultats obtenus sont très proches. Il a donc été choisi de retenir les résultats les plus faibles, issus du logiciel PKPD.

Les valeurs obtenues pour les CL₀₁ et CL₀₅ sont les suivantes :

CL₀₁ (ppm)		CL₀₅ (ppm)	
Temps (min)	Rat	Temps (min)	Rat
1	131625	1	182902
10	1629	10	2263
20	434	20	603
30	200	30	278
60	53	60	74
120	14	120	20
240	3.8	240	5
480	1	480	1,4

Il donc convenu de retenir ces valeurs pour la fixation des seuils des effets létaux en cas d'émission accidentelle d'ADAME :

TEMPS (min)	S.E.L. 1%	
	mg/m ³	ppm
1	768690	131625
10	9513	1629
20	2534	434
30	1168	200
60	309	53
120	81	14
240	22	3,8
480	5,8	1

TEMPS (min)	S.E.L. 5%	
	mg/m ³	ppm
1	1068147	182902
10	13216	2263
20	3520	603
30	1623	278
60	432	74
120	117	20
240	29	5
480	8	1,4

5.5 SEUILS DES EFFETS IRREVERSIBLES

La détermination des seuils d'effets irréversibles (S.E.I.) n'a pas été possible à la vue de l'absence d'étude. Il est proposé 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'ADAME étant considérés comme purement locaux, un facteur par défaut supplémentaire de 1/3 a été aussi retenu :

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

TEMPS (min)	S.E.I.	
	mg/m ³	ppm
1	85410	14625
10	1057	181
20	281	48
30	130	22
60	34	5,9
120	9	1,5
240	2,4	0,4
480	0,6	0,1

5.6 SEUILS DES EFFETS REVERSIBLES

Les données disponibles sont insuffisantes pour définir un seuil d'effets réversibles.

5.7 SEUIL DE PERCEPTION

Pas d'information disponible.

6. CONCLUSION

◆ Seuils d'effets létaux

TEMPS (min)	S.E.L. 1%	
	mg/m ³	ppm
1	768690	131625
10	9513	1629
20	2534	434
30	1168	200
60	309	53
120	81	14
240	22	3,8
480	5,8	1

TEMPS (min)	S.E.L. 5%	
	mg/m ³	ppm
1	1068147	182902
10	13216	2263
20	3520	603
30	1623	278
60	432	74
120	117	20
240	29	5
480	8	1,4

◆ Seuils d'effets irréversibles

TEMPS (min)	S.E.I.	
	mg/m ³	ppm
1	85410	14625
10	1057	181
20	281	48
30	130	22
60	34	5,9
120	9	1,5
240	2,4	0,4
480	0,6	0,1

◆ Seuils d'effets réversibles

Néant.

◆ Seuil de perception

Néant.

7. RÉFÉRENCES

ARKEMA (1991a) Dimethylaminoethyl acrylate (ADAME) Acute inhalation toxicity in rats 4-hour exposure, HRC, study nr NGO 6/901612, 7 February 1991.

ARKEMA (1991b) 1-hour acute inhalation toxicity study with Dimethylaminoethyl acrylate (ADAME) in rats (whole body exposure), RCC, study nr 298462, July 1991.

ARKEMA (2005) ADAME. Fiche de données de Sécurité.

INERIS (2003) Seuils de toxicité aiguë. Méthodologie de détermination des seuils des effets létaux, des effets irréversibles, des effets réversibles et de perception.

Klimisch, H.-J., Andreae, M., and Tillmann, U. (1997) A systematic approach for evaluating the quality of experimental toxicological and ecotoxicological data. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 25, 1-5.

OCDE (2003) 2-Dimethylaminoethyl acrylate. SIDS Initial Assessment Report For SIAM 16. UNEP publication.

Rosner, G. (1994) Validierung von SDS : Standardbegründungen (ersetzt info VAL2010.doc). Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Aerosolforschung, 08-11-1994.

8. LISTE DES ANNEXES

Repère	Désignation précise	Nb pages
Annexe 1	Principales données expérimentales sur la mortalité induite par l'ADAME.	1
Annexe 2	Seuils des effets létaux déterminés pour l'ADAME chez le rat (ARKEMA 1991a et 1991b).	3
Annexe 3	Résultats obtenus en sortie du logiciel Probit standard	5
Annexe 4	Résultats obtenus en sortie du logiciel Probit PKPD	6
Annexe 6	Résumé détaillé de l'étude ARKEMA (1991a)	4
Annexe 6	Résumé détaillé de l'étude ARKEMA (1991b)	2
Annexe 7	Critère pour la détermination de la validité d'une étude	1

Annexe 1

Principales données expérimentales sur la mortalité induite par l'ADAME.

Etudes	Espèces	Durée d'exposition (min)	Concentration (ppm)	Nombre de décès	Nombre d'animaux par lot	Validité
ARKEMA, 1991a	Rat	240	6	2	10	1
			10	1	10	
			16	9	10	
			78	10	10	
			CL ₅₀ = 11 ppm			
ARKEMA, 1991b	Rat	60	87	0	5*	1
			153	2	5*	
			211	4	5*	

* seulement les rats mâles, pas de mortalité a été observé chez les rats femelles.

Annexe 2

Seuils des effets létaux déterminés pour l'ADAME chez le rat (ARKEMA, 1991a et 1991b).

Le tableau suivant présente pour chaque durée d'exposition, la valeur du mode des concentrations létales 1%, 5% et 50%.

Temps	CL1%	CL5%	CL50%
	(ppm)	(ppm)	(ppm)
	Probit Std (IC95)	Probit Std (IC95)	Probit Std (IC95)
	PKPD (IC95)	PKPD (IC95)	PKPD (IC95)
1	151079 (3670-838000)	209084 (8900-1580000)	456252 (56700-9320000)
	131625 (5,5-397000)	182902 (27-638000)	403026 (862-2830000)
10	1767 (65-3840)	2445 (220- 5890)	5336 (1720-30300)
	1629 (0,7-2680)	2263 (4,5-3960)	4987 (170-15400)
20	463 (18-80)	640 (85-1180)	1398 (599-5380)
	434 (0,4-627)	603 (2,3-892)	1329 (104-3210)
30	211 (8-331)	293 (30-471)	638 (322-1950)
	200 (0,2-271)	278 (1,6-378)	613 (78-1290)
60	55 (2-77)	77 (8-103)	167 (110-369)
	53 (0,1-66)	74 (0,7-90)	163 (46-281)
120	14 (0,5-19)	20 (2-25)	44 (33-75)
	14 (0,04-17)	20 (0,3-23)	44 (28-70)
240	3,8 (0,1-4,9)	5,3 (0,4-6,5)	11 (8-19)
	3,8 (0,02-4,8)	5 (0,1-6,4)	12 (9-28)
480	1 (0,02-1,4)	1,4 (0,1-1,8)	3,0 (1,5-5,9)
	1 (0,007-1,4)	1,4 (0,04-2,1)	3,1 (2,0-15,6)

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

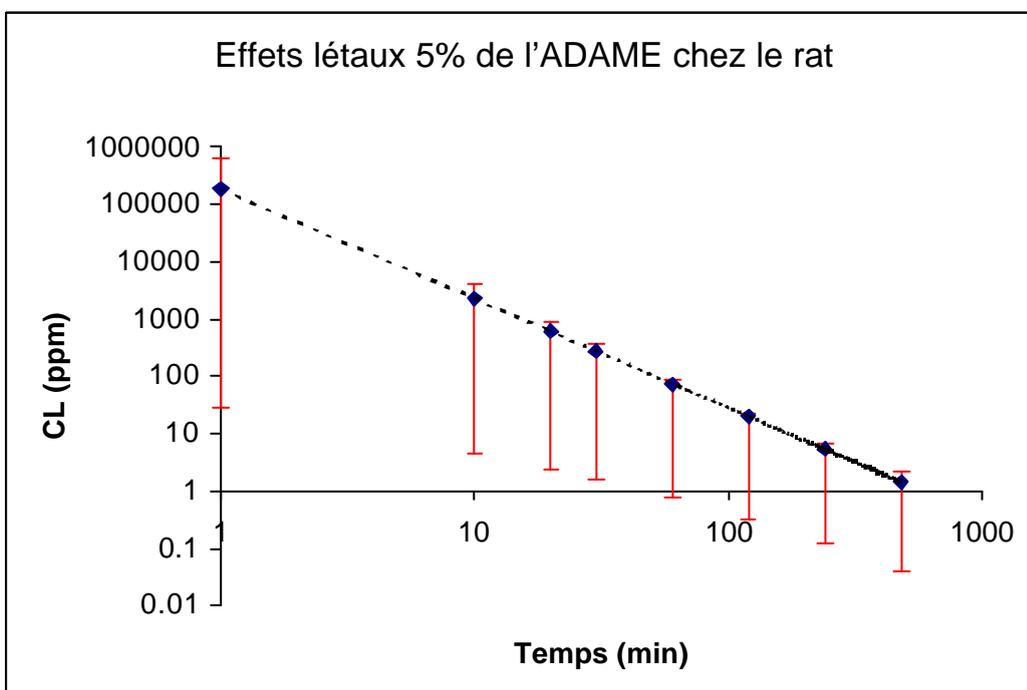
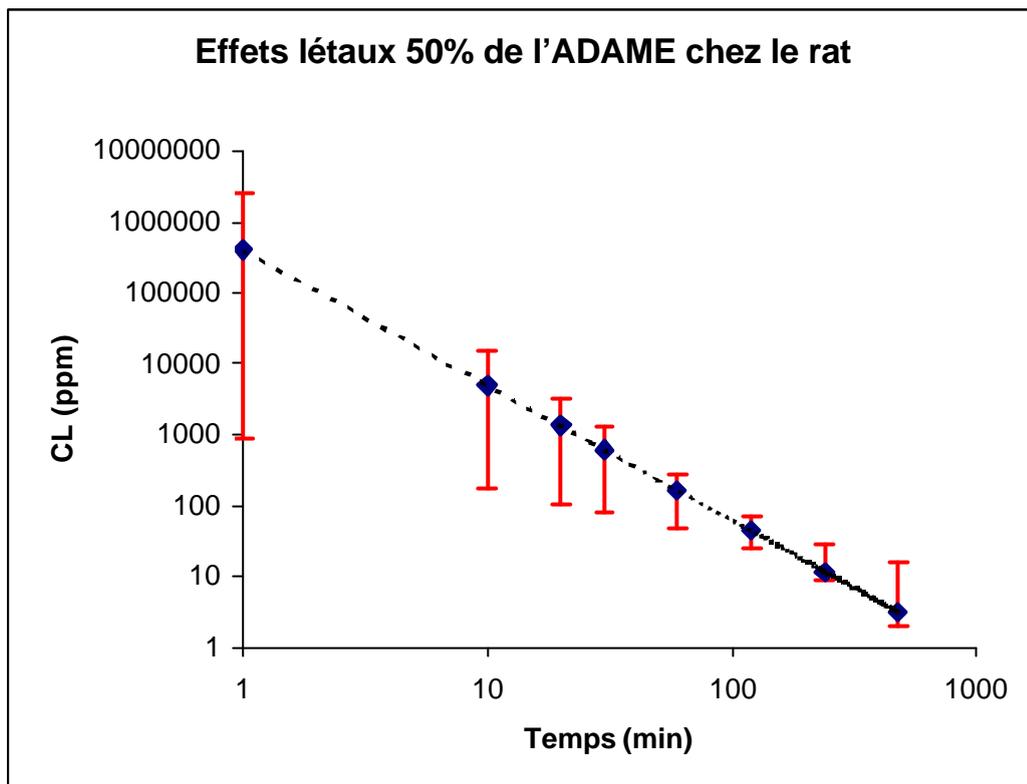
- **Probit standard** $Y = 2,11 \ln(\text{concentration}) + 4,08 \ln(\text{temps}) - 27,49$
 $n = 0,518$ IC95 [0,4 – 0,667]

- **Probit PKPD** $Y = 2,08 \ln(\text{concentration}) + 3,97 \ln(\text{temps}) - 25,63$
 $n = 0,524$ IC95 [0,439 -1,47]

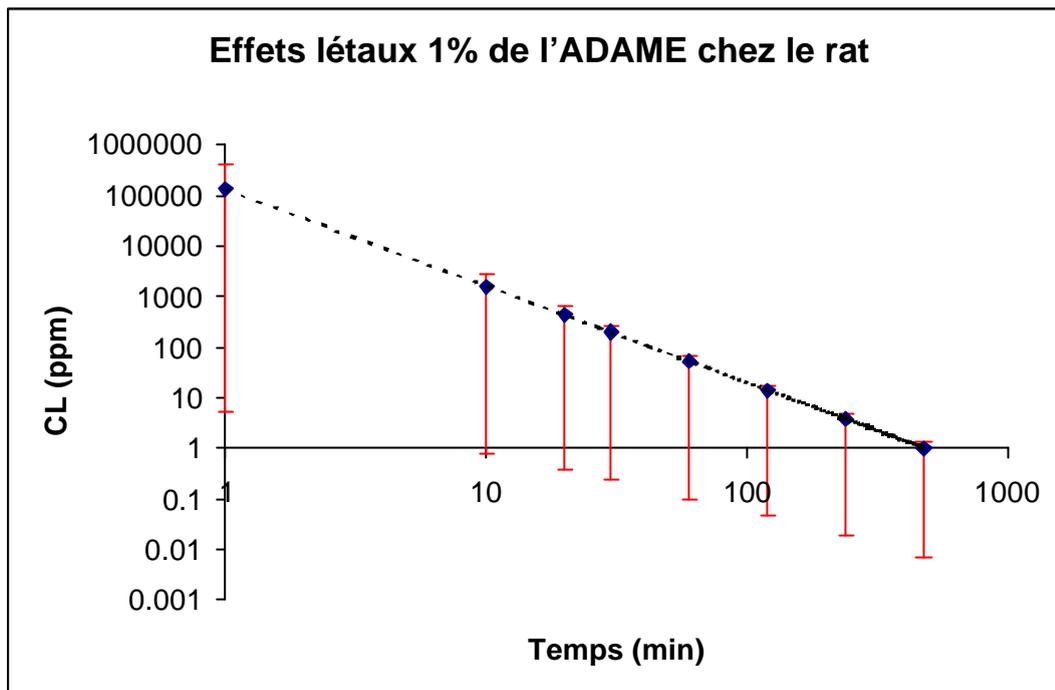
Y est une fonction de l'équation probit.

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

Graphique 1 : seuils des effets létaux déterminés par le Probit PKPD pour l'ADAME chez le rat (ARKEMA, 1991a et 1991b).



Effets létaux 1% de l'ADAME chez le rat



Annexe 3

Résultats obtenus en sortie du logiciel probit standard

The data

Substance : ADAME

Species : rat

Study reference : ARKEMA 1991 a et b

Number of groups : 7

Array of data :

C	T	n_obs	n_incid
78	240	10	10
16	240	10	9
10	240	10	1
6	240	10	2
87	60	10	0
153	60	10	2
211	60	10	4

Model parameter estimates

	Estimate*	95% Confidence Interval
n	0.454	[0.341 , 0.524]
μ	14.517	[13.2 , 18.5]
σ	0.501	[0.409 , 1.77]

* The estimate is obtained from maximum posterior vector.

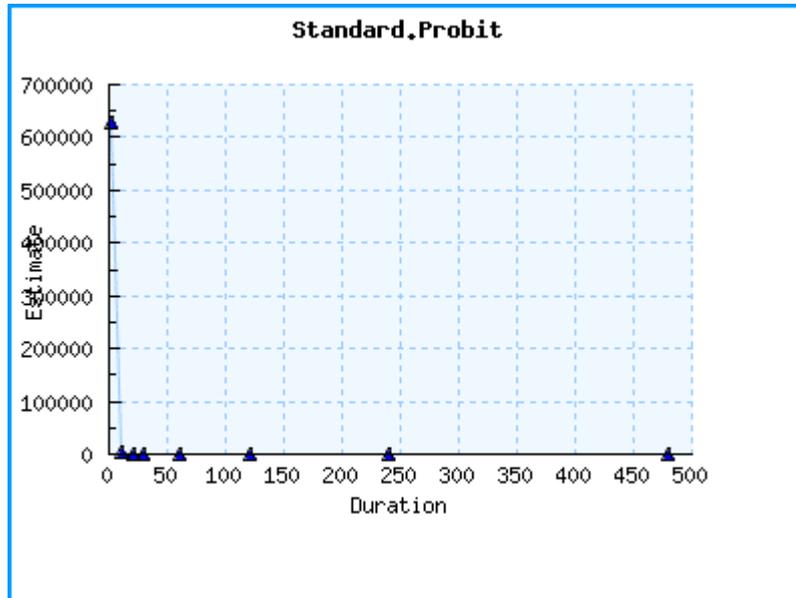
Effective toxic dose equation :

$$1.996 \ln(C) + 4.398 \ln(T) - 28.976$$

Reference concentrations LC1% and their 95% confidence intervals

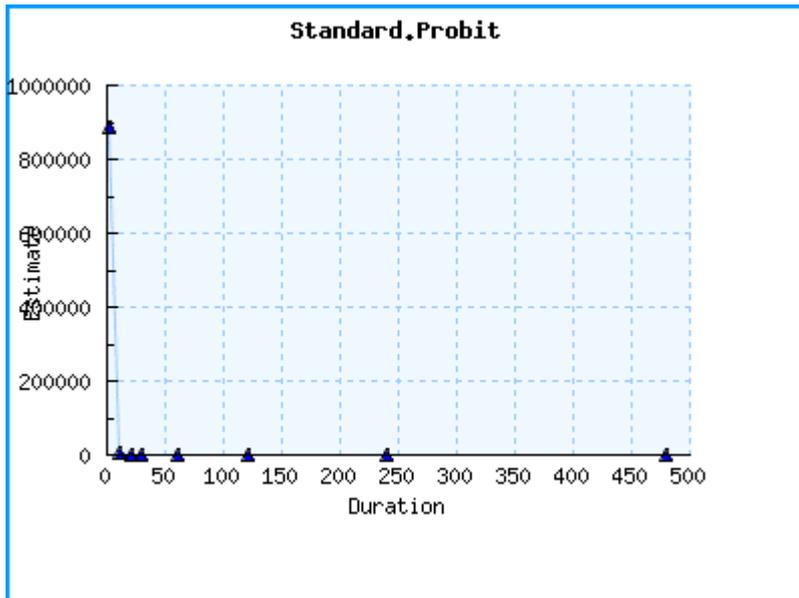
Exposure duration (min)	Estimate*	95% Confidence Interval
1	627314	[61800 , 5620000]
10	3928.12	[514 , 8570]
20	852.954	[105 , 1400]

30	349.095	[39.3 , 508]
60	75.803	[7.52 , 98.6]
120	16.46	[1.3 , 20.4]
240	3.574	[0.19 , 4.54]
480	0.776	[0.029 , 1.04]



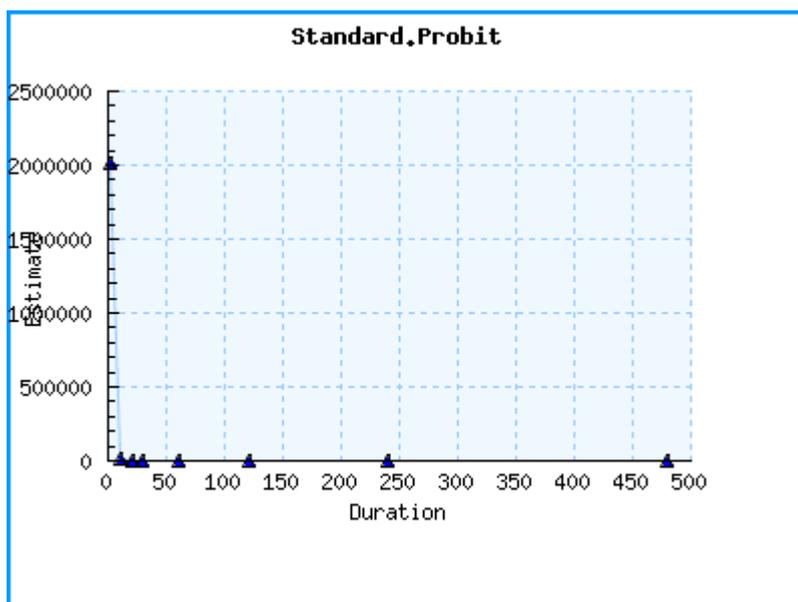
Reference concentrations LC5% and their 95% confidence intervals

Exposure duration (min)	Estimate*	95% Confidence Interval
1	884224	[127000 , 11500000]
10	5536.84	[1370 , 16200]
20	1202.27	[317 , 2370]
30	492.063	[124 , 772]
60	106.847	[23.8 , 137]
120	23.201	[4.18 , 27.8]
240	5.038	[0.679 , 6.08]
480	1.094	[0.098 , 1.44]

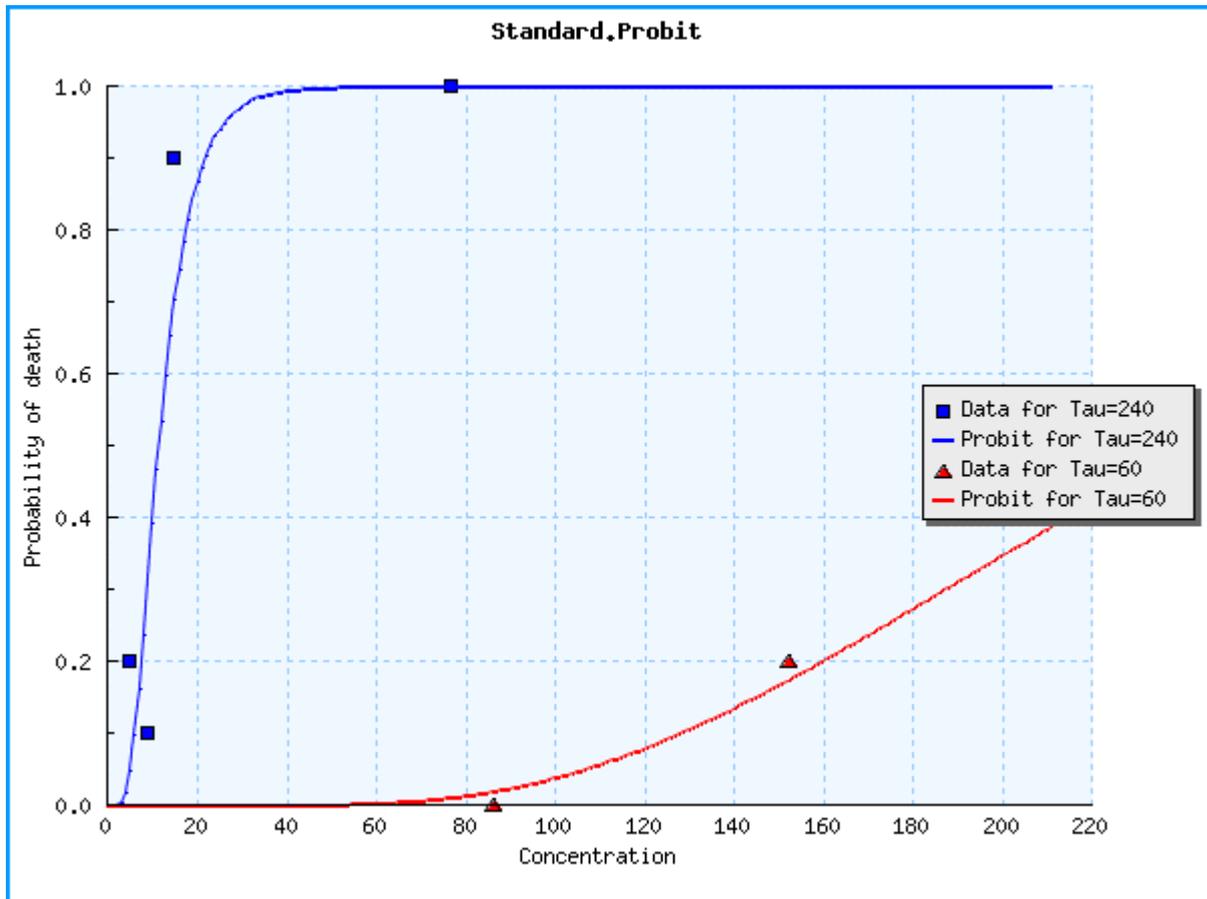


Reference concentrations LC50% and their 95% confidence intervals

Exposure duration (min)	Estimate*	95% Confidence Interval
1	2016350	[522000 , 108000000]
10	12626	[6260 , 128000]
20	2741.62	[1680 , 16500]
30	1122.08	[762 , 5040]
60	243.649	[193 , 705]
120	52.906	[45 , 107]
240	11.488	[8.19 , 19.9]
480	2.495	[1.18 , 4.59]



Probability of an adverse response



Annexe 4

Résultats obtenus en sortie du logiciel Probit PKPD

The data

Substance : ADAME

Species : Rat

Study reference : ARKEMA 1991 a et b

Number of groups : 7

Array of data :

C	T	n_obs	n_incid
78	240	10	10
16	240	10	9
10	240	10	1
6	240	10	2
87	60	5	0
153	60	5	2
211	60	5	4

Model parameter estimates

	Estimate*	95% Confidence Interval
k	10.342	[0.542 , 14.4]
kr	0.734	[0.057 , 0.963]
n	0.524	[0.439 , 1.47]
μ	9.413	[7.27 , 13.9]
σ	0.252	[0.21 , 3.11]

* The estimate is obtained from maximum posterior vector.

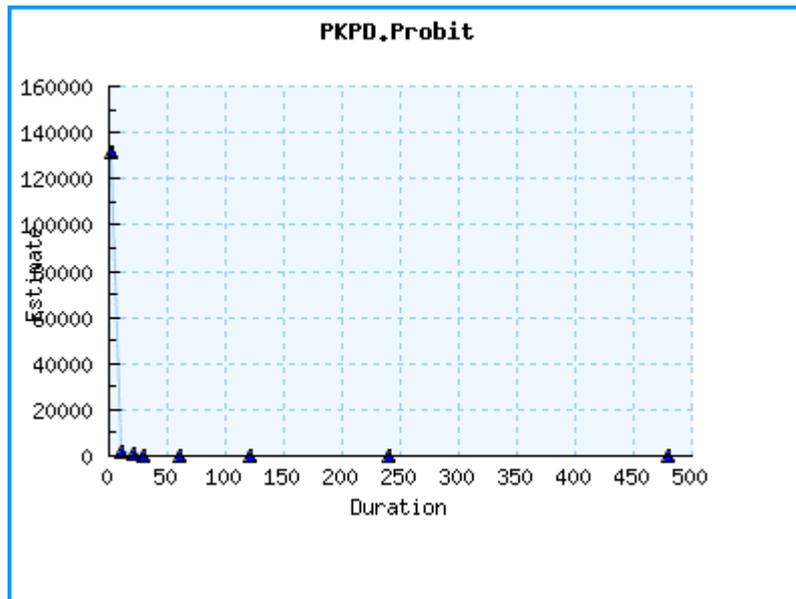
Effective toxic dose is approximately :

$$2.079 \ln (C) + 3.968 \ln (0.734 T) - 25.63$$

Reference concentrations LC1% and their 95% confidence intervals

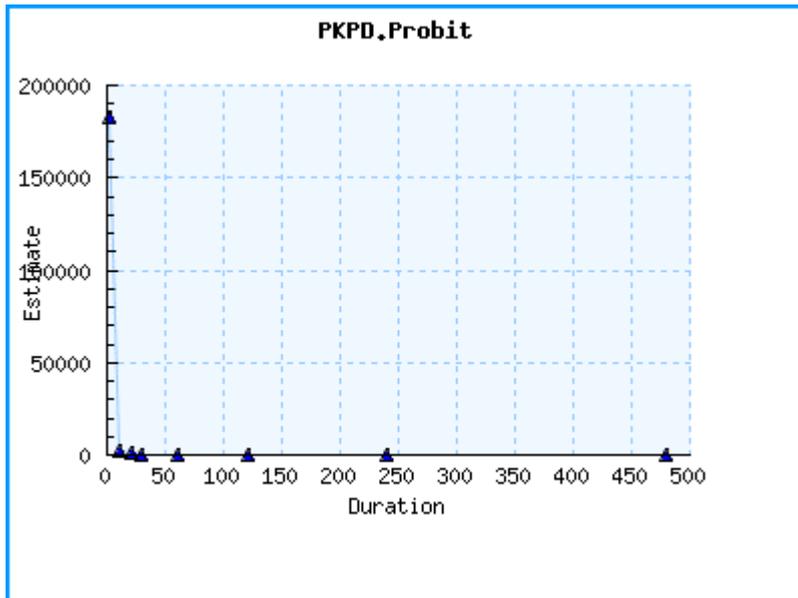
Exposure duration (min)	Estimate*	95% Confidence Interval
1	131625	[5.51 , 397000]

10	1628.85	[0.764 , 2680]
20	434.19	[0.376 , 627]
30	200.352	[0.24 , 271]
60	53.406	[0.106 , 66.2]
120	14.236	[0.045 , 17.2]
240	3.795	[0.018 , 4.79]
480	1.012	[0.007 , 1.42]



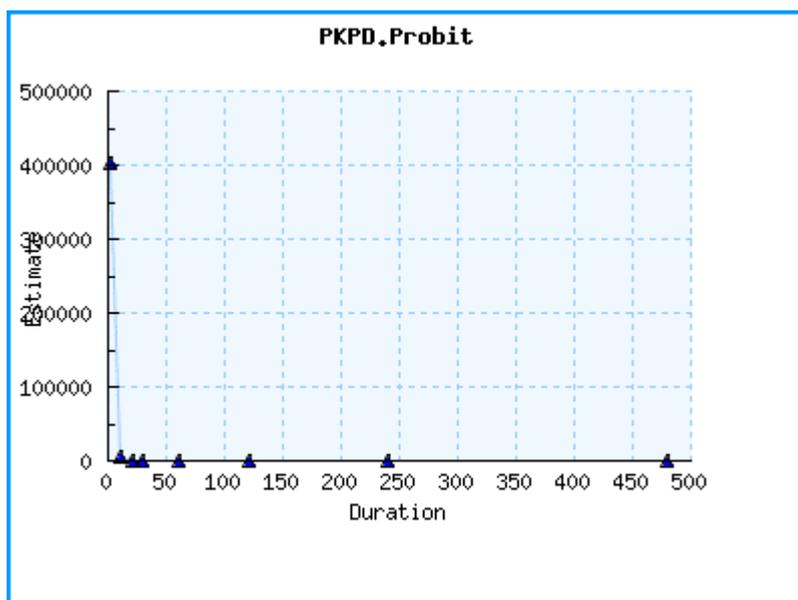
Reference concentrations LC5% and their 95% confidence intervals

Exposure duration (min)	Estimate*	95% Confidence Interval
1	182902	[27.5 , 638000]
10	2263.39	[4.47 , 3960]
20	603.334	[2.35 , 892]
30	278.401	[1.63 , 378]
60	74.211	[0.753 , 90.5]
120	19.782	[0.321 , 23.1]
240	5.273	[0.125 , 6.44]
480	1.406	[0.045 , 2.1]

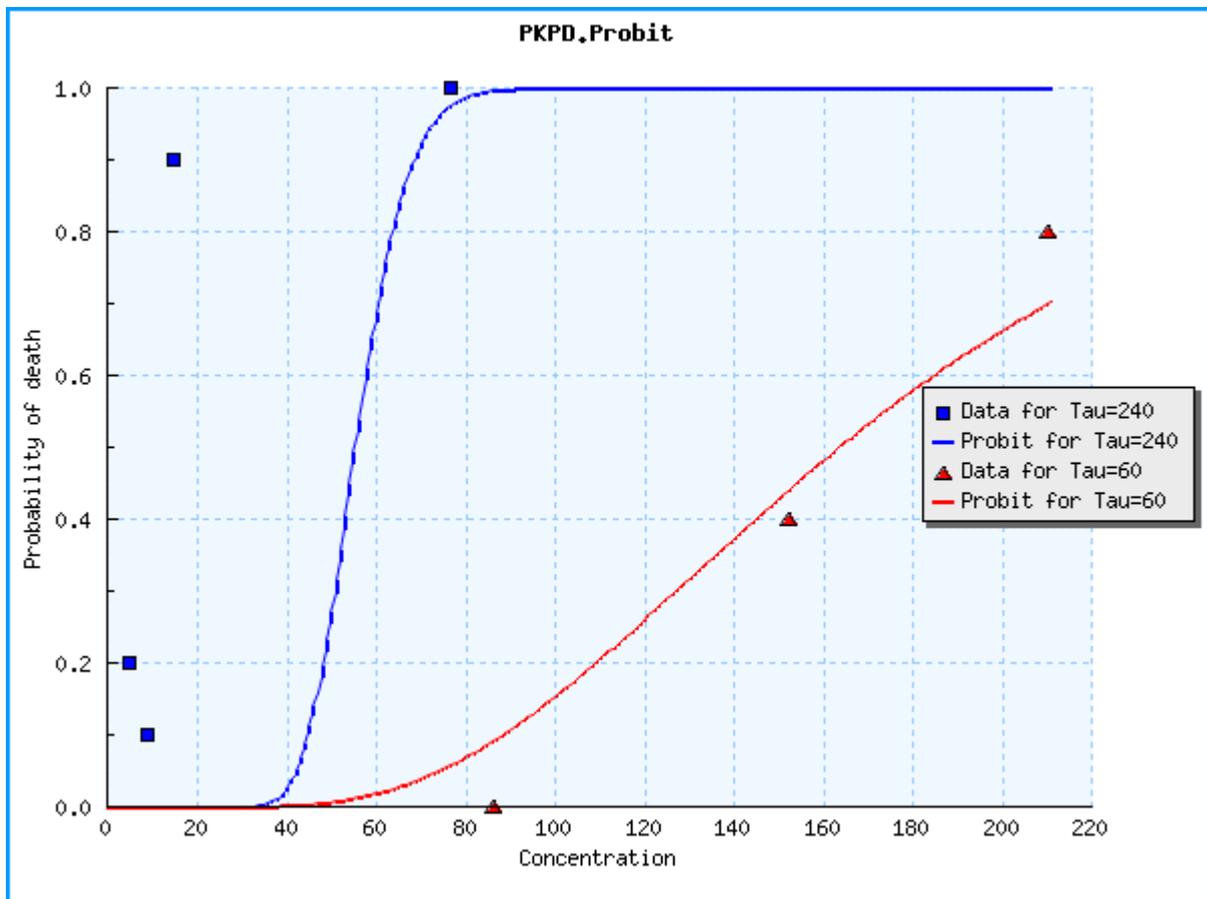


Reference concentrations LC50% and their 95% confidence intervals

Exposure duration (min)	Estimate*	95% Confidence Interval
1	403026	[862 , 2830000]
10	4987.41	[170 , 15400]
20	1329.45	[104 , 3210]
30	613.46	[77.8 , 1290]
60	163.525	[46.1 , 281]
120	43.59	[24.7 , 70.3]
240	11.619	[8.59 , 28.5]
480	3.097	[1.99 , 15.6]



Probability of an adverse response



Annexe 5
Résumé détaillé de l'étude ARKEMA (1991a)

Type : LC50
Species : t Ra
Strain : Sprague-Dawley
Sex : male/female
Number of animals : 40
Vehicle : air
Exposure time : 4 hr
Value = 0.066 mg/L
Method OECD Guide-line 403 "Acute Inhalation Toxicity"
Year 1991
GLP yes
Remark Vapor + Aerosol.
 Symptoms : Gaspings, lethargy, noisy respiration
Test condition TEST ORGANISMS:
 - Source: Charles Rivers UK
 - Age: 6 week old males and 8 week old females
 - Weight at study initiation: ca. 200 g
 - Number of animals: 40, 5 males and 5 females / group
 - Controls: 10 ADMINISTRATION:
 - Type of exposure: whole body exposure in exposure chamber containing a liquid droplet aerosol generated from this substance.
 - Concentrations: 0.037, 0.058, 0.092 and 0460 mg/L
 - Duration of exposure: 4 hr
 - Observation period: 14 day post exposure

- Concentrations:

ADAME in air [mg/L]	Variation (%)
0.058	5
0.037	32
0.92	35
0.460	67

Variation = range x 100 / mean

- Particle size:
 Approximately 82% to 90% of this substance present in the chamber atmosphere was in the form of or associated with particles of respirable size (< 5.5 um aerodynamic diameter).
 - Type of preparation of aerosol
 The aerosol generator was designed to produce and maintain an atmosphere containing a high proportion of respirable droplets.
 All parts of the generator in contact with this substance were made of stainless steel or glass.
 This substance was supplied to the generator from a syringe driven at a constant rate by a syringe pump. The compressed air supply to the generator was dried, filtered and oil-free.

Result MORTALITY:
 - Time of death:
 In group 0.0058 mg/L, one male died overnight following exposure.
 In group 0.037 mg/L, two males died on day 1 (pm) of the observation period.
 In group 0.092 mg/L, two male and two females died overnight following exposure. One male died on day 1(pm). One male and two females were found dead on day 2 (am) and one female died on day 2 (pm) of the observation period.
 In group 0.460 mg/L, one male rat and one female rat died during exposure. Two

male rats and two female rats died within 2 hr post exposure. One male rat died overnight following exposure. One male rat and two female rats were found dead on day 2 (am) of the observation period.

- Number of deaths at each dose:

Level [mg/L]	Mortality		Total
	Males	Females	
Control	0/5	0/5	0/10
0.037	2/5	0/5	2/10
0.058	1/5	0/5	1/10
0.092	4/5	5/5	9/10
0.460	5/5	5/5	10/10

CLINICAL SIGNS:

- (a) During exposure:

The signs seen during exposure were considered to be consistent with inhalation of an irritant aerosol included partial closing of the eyes exaggerated respiratory movements irregular respiration rate, adoption of a hunched body posture and gasping. One male and one female exposed at 0.460 mg/L died during exposure.

-(b) During observation period:

At the time of removing of the rats from exposure chamber (day 0), gasping, wet fur and lethargy was observed.

On day 1 and later, were noisy respiration, rales and brown staining. No death was recorded after day 2.

Recovery was observed from day 4 and all surviving animals were normal in appearance and behaviour by day 7 of the observation period.

- c) Bodyweight:

Moderate to marked decreases of bodyweight or reduction in the rate of bodyweight gain for up to 3 day following exposure.

Weight gain for rats that survived was similar to that of the controls.

- NECROPSY

The lung weight to bodyweight ratio was increased, due to high lung weight in rat that died following exposure to 2-(dimethylamino)ethyl acrylate. The ratios were within normal limits for rats that survived.

Lung weight to bodyweight ratios

Group	Rat	Lung weight (g)	Body-weight (g)	Lung to bodyweight ratio (LW x 100/BW)	
				Survivors	Decedents
1♂ (Control)	1	1.44	314	0.46	
	2	1.36	343	0.40	
	3	1.49	338	0.44	
	4	1.17	293	0.40	
	5	1.35	321	0.42	
			Mean	0.42	
			SD	0.026	
1♀ (Control)	6	1.36	265	0.51	
	7	1.23	268	0.46	
	8	1.27	252	0.50	
	9	1.37	260	0.53	
	10	1.17	269	0.43	
			Mean	0.49	
			SD	0.040	
2♂ (0.460 mg/l)	11	1.35	214		0.63
	12	2.43	179		1.36
	13	1.25	205		0.61
	14	1.37	223		0.61
	15	2.40	212		1.13
			Mean		0.87
			SD		0.354
2♀ (0.460 mg/l)	16	1.41	223		0.63
	17	1.75	211		0.83
	18	2.13	176		1.21
	19	2.99	193		1.55
	20	1.77	209		0.85
			Mean		1.01
			SD		0.365

SD Standard deviation

Group	Rat	Lung weight (g)	Body-weight (g)	Lung to bodyweight ratio (LW x 100/BW)	
				Survivors	Decedents
3♂ (0.092 mg/l)	21	1.89	173	0.51	1.09
	22	1.43	279		1.22
	23	2.42	199		0.82
	24	1.39	169		0.74
	25	1.50	203		
Mean				-	0.97
SD				-	0.225
3♀ (0.092 mg/l)	26	1.59	166		0.96
	27	1.98	207		0.96
	28	2.26	186		1.22
	29	2.35	218		1.08
	30	2.09	181		1.15
Mean					1.07
SD					0.115
4♂ (0.037 mg/l)	31	1.37	287	0.48	
	32	1.51	334	0.45	
	33	1.87	191		0.98
	34	2.46	195		1.26
	35	1.37	326	0.42	
Mean				0.45	1.12
SD				0.030	-
4♀ (0.037 mg/l)	36	1.23	257	0.48	
	37	1.24	238	0.52	
	38	1.34	256	0.52	
	39	1.41	280	0.50	
	40	1.31	239	0.55	
Mean				0.51	
SD				0.026	

SD Standard deviation

NECROPSY FINDINGS:

- Macroscopic findings;

The findings for rats that died as a result of exposure were typified by congestion, and a swollen appearance of the lungs. The stomach of a number of decedents were gas-filled.

There were no treatment-related macroscopic abnormalities in rats that survived exposure to this substance.

- Microscopic observation; Lungs: Minimal vascular congestion and areas of pulmonary edema in many of the decedents rats.

The LC50 (4 hr) for 2-(dimethylamino)ethyl acrylate is estimated as 0.066 mg/L of air. The standard error of the estimate is 0.007 mg/L.

Annexe 6
Résumé détaillé de l'étude ARKEMA (1991b)

Type LC50
 Species rat
 Strain Wistar
 Sex male/female
 Number of animals 30
 Vehicle Air
 Exposure time 1 hr
 Value = 0.972 mg/L
 Method OECD Guide-line 403 "Acute Inhalation Toxicity"
 Year 1991
 GLP yes
 Remark The gravimetric determinations of concentration and particle size distribution are indicative only of the solid phase or non evaporated liquid phase of the test article. Any vapor component or any fraction which might evaporate or sublimate is not accounted for.

Test condition TEST ORGANISMS:
 -Source: BRL ltd, CH-4414 Fuelleinsdorf / Switzerland
 Ages: males; 10 week, females; 12 week
 - Weight at study initiation: males; 182.4 - 200 g, females; 180.8 -198.8 g
 - Number of animals: 15 males, 15 females
 - Controls: no

ADMINISTRATION:

- Type of exposure: whole body
 - Concentrations etc.:

Groups	1	2	3
Nominal concentration [mg/L air]	0.568	0.890	1.386
Analytical concentration [mg/L air]	0.512	0.895	1.237
Gravimetric*	0.0001	0.0002	0.0004
Temperature [° C]	23.1(a) 23.9(b)	23.0(a) 24.2(b)	24.0(a) 24.2(b)
Relative Humidity [% rh]*	57.8(b)	0.3(a) 42.2(b)	1.0(a) 50.5(b)

(a): At the entry of the exposure chamber

(b): At the exit of the exposure chamber

* : The compressed air supply was specially filtered with silica gel to reduce the relative humidity.

- The oxygen concentration in the exposure chamber:

At the entry of the exposure chamber: 20.9 vol%

At the exit of the exposure chamber: 20.5 - 20.6 vol%

- Particle size: The percentage of particles found on the 3 µm or less stage of the impactor was 100% in all groups.

Result

MORTALITY:

- Time of death:

No female died during and after exposure.

In group 2, one male died on the test day 2 and one on test day 3. One male of group 3 died shortly after exposure, two others on test day 2, and one on test day 3.

- Mortality at each dose:

Groups	1	2	3
Concentration [g/L air]	0.512	0.895	1.237
Males (%)	0	40	80
Females (%)	0	0	0

ARKEMA, 4-8 cours Michelet, 92091 Paris-la-Défense

Both Sexes (%) 0 20 40

CLINICAL SIGNS:

- Group 1 (0.512 mg/L): Restlessness was noted in one male during exposure. Hunched posture, labored respiration and rales were observed in both sexes following exposure. None of these signs persisted more than 5 day.

- Group 2 (0.895 mg/L): Restlessness and labored respiration were noted in a few animals during exposure. A number of signs were noted in both sexes following exposure: sedation, hunched posture, laboured respiration, rales, stiff gait; in the males: ventral recumbency, and in the females: excitement, serious rhinorrhea, chromodacryorrhea and lid adhesion. Breathing difficulties and hunched posture lasted 6-7 day, whereas other signs disappeared after 2-3 day.

- Group 3 (1.237 mg/L): Restlessness, labored respiration (both sexes) as well as salivation and serous rhinorrhea (females) were noted in a few animals during exposure. Except for chromodacryorrhea and lid adhesion, the signs observed in group 2 as well as ruffled fur were also noted in group 3. Hunched posture and breathing difficulties disappeared after test-day 8.

NECROPSY FINDINGS:

- Macroscopic Observations There were no definite treatment-related necropsy findings identified as the majority of changes were considered to be due to post-mortem congestion in the premature decedants. - Microscopic Observations Necrosis and exudation was seen in the nasal cavities (levels 1+2), larynx and trachea of all premature decandants, with the exudate being purulent in animals which survived the treatment period. some animals of group 2 (0.895 mg/L air) and 3 (1.237 mg/L air) which survived the observation period showed epithelial hyperplasia, sometimes with keratinisation in the larynx, but the degree of recovery was high. No pathological evidence of toxicity was seen in group 1 animals (0.512 mg/L air).

SEX-SPECIFIC DIFFERENCES: No death was recorded in the females.

The LC50 of 2-(dimethylamino)ethyl acrylate for this 1 hr acute inhalation toxicity study in rats of both sexes observed over a period of 15 day was estimated to be:

Animals	Males	Females	Both Sexes
LC50 [mg/L air]	0.972	> 1.237	1.342
95% confidence limit	0.924-1.022	-	1.199-1.503

Annexe 7

Critère pour la détermination de la validité d'une étude

Adapté de Klimisch et al (1997) et Rosner (1994)

Code	Category of reliability
1	Reliable without restriction
1a	GLP guideline study (OECD, EC, EPA, FDA, etc...)
1b	Comparable to guideline study
1c	Test procedure in accordance with national standard methods (AFNOR, DIN, etc...)
1d	Test procedure in accordance with generally accepted scientific standards and described in sufficient detail
2	Reliable with restrictions
2a	Guideline study without detailed documentations
2b	Guideline study with acceptable restrictions
2c	Comparable to guideline study with acceptable restrictions
2d	Test procedure in accordance with national standard methods with acceptable restrictions
2e	Study well documented, meets generally accepted scientific principles, acceptable for assessment
2f	Accepted calculation method
2g	Data from handbook or collection of data
3	Not reliable
3a	Documentation insufficient for assessment
3b	Significant methodological deficiencies
3c	Unsuitable test system
4	Not assignable
4a	Abstract
4b	Secondary literature
4c	Original reference not yet available
4d	Original reference in language (e.g. Russian)
4e	Documentation insufficient for assessment