

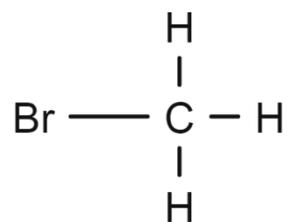
**Rapport de seuil de toxicité aiguë**

**Groupe d'experts toxicologues du Ministère en charge de l'Environnement**

**Seuil de toxicité aiguë**

**Bromure de méthyle**

**N° CAS 74-83-9**





## PRÉAMBULE

Le présent rapport a été établi à partir du rapport INERIS référencé DRC-15-148872-11756A « Seuils de Toxicité aiguë pour le bromure de méthyle » 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	Juillet 2016
Soumission de la version projet aux experts par voie électronique	Aout 2016
Examen(s) par les experts	Septembre 2016, décembre 2017, janvier 2020 et juin 2020
Soumission de la version finale aux experts par voie électronique	Juillet 2020
Rapport amendé et finalisé	Septembre 2020

# TABLE DES MATIÈRES

<b>1. RESUME.....</b>	<b>6</b>
<b>2. INTRODUCTION.....</b>	<b>9</b>
<b>3. VALEURS OFFICIELLES EXISTANTES .....</b>	<b>11</b>
<b>4. DONNEES DE TOXICITE CHEZ L'HOMME .....</b>	<b>13</b>
4.1 Données épidémiocliniques.....	13
4.2 Données expérimentales chez les Volontaires Sains .....	15
<b>5. DONNEES DE TOXICITE CHEZ L'ANIMAL .....</b>	<b>15</b>
5.1 Etude des effets létaux.....	15
5.1.1 Chez les Rongeurs : Rat, Souris et Cobayes.....	15
5.1.2 Chez le Lapin.....	19
5.1.3 Chez le chien .....	19
5.1.4 Chez les primates non humains.....	19
5.2 Etude des effets non létaux .....	19
5.2.1 Chez les Rongeurs : Rat, Souris et Cobayes.....	19
5.2.2 Chez le Lapin.....	22
5.2.3 Chez le Chien .....	22
5.2.4 Chez les Primates non humains .....	22
<b>6. ANALYSE DES DONNEES DE TOXICITE.....</b>	<b>22</b>
6.1 Analyse des données de mortalité .....	22
6.1.1 Analyse qualitative .....	22
6.1.2 Analyse quantitative .....	23
6.2 Analyse des effets non létaux.....	26
6.2.1 Synthèse des effets non létaux chez l'homme .....	26
6.2.2 Synthèse des effets non létaux chez l'animal .....	26
<b>7. REVUE DES RESULTATS.....</b>	<b>27</b>
7.1 Extrapolation des données expérimentales de l'animal à l'homme .....	27
7.2 Seuils d'effets létaux chez l'homme.....	28
7.3 Seuils des effets irréversibles.....	29
7.4 Seuils des effets réversibles.....	30
7.5 Seuil de perception.....	31
<b>8. CONCLUSION .....</b>	<b>32</b>

<b>9. REFERENCES .....</b>	<b>34</b>
<b>10. LISTE DES ANNEXES .....</b>	<b>36</b>

## 1. RESUME

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

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

Dans ce contexte, le ministère en charge de L'Environnement 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 bromure de méthyle.

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

### ◆ **Seuils d'effets létaux significatifs**

TEMPS (min)	SELS	
	mg.m <sup>-3</sup>	ppm
1*	15 552	3 998
10	7 220	1 856
20	5 730	1 473
30	5 006	1 287
60	3 972	1 021
120	3 151	810
240	2 501	643
480	1 253	322

<sup>1</sup> D'un point de vue toxicologique, il n'est pas pertinent de déterminer de valeur seuil pour un effet donné (léta, irréversible ou réversible) pour des durées d'exposition inférieures à 10 minutes. Ceci s'explique en raison de la physiologie respiratoire et les apnées réflexes mis en jeu en cas d'exposition à des substances irritantes par inhalation.

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

◆ **Seuils des premiers effets létaux**

TEMPS (min)	SPEL	
	mg.m <sup>-3</sup>	Ppm
1*	14 412	3 705
10	6 691	1 720
20	5 310	1 365
30	4 637	1 192
60	3 680	946
120	2 921	751
240	2 318	596
480	1 159	298

◆ **Seuils d'effets irréversibles**

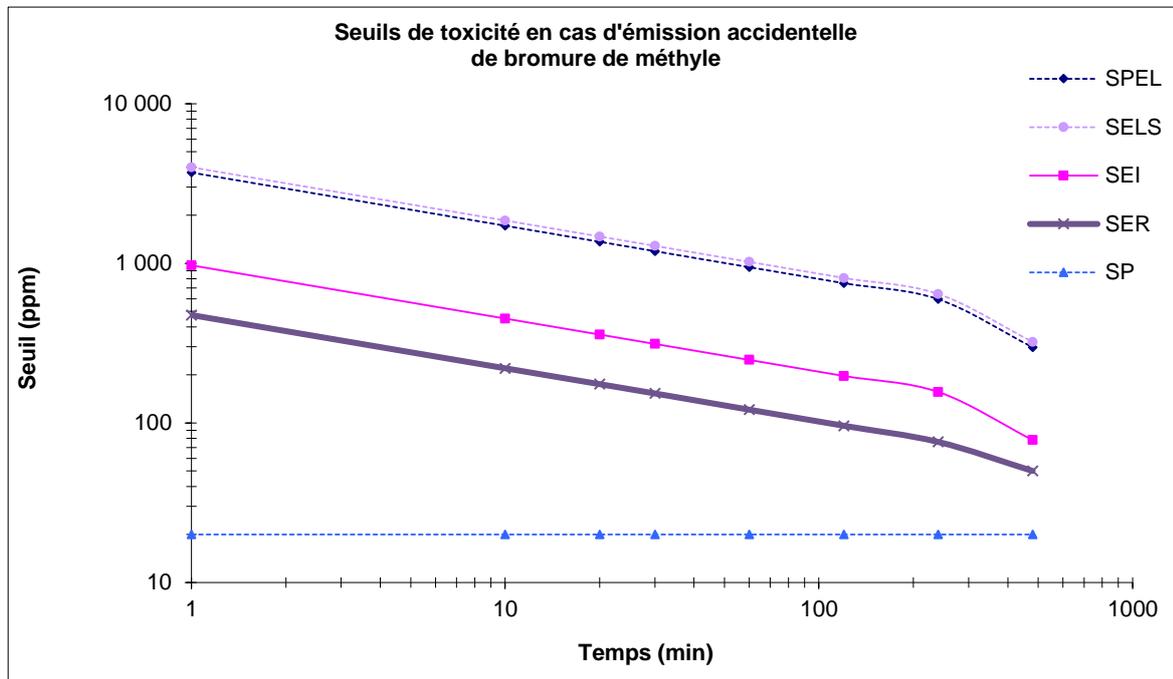
TEMPS (min)	SEI <sub>c</sub>	
	mg.m <sup>-3</sup>	Ppm
1*	3 779	972
10	1 754	451
20	1 392	358
30	1 216	313
60	965	248
120	766	197
240	608	156
480	304	78

◆ **Seuils d'effets réversibles**

TEMPS (min)	SER	
	mg.m <sup>-3</sup>	Ppm
1*	1845	474
10	856	220
20	680	175
30	594	153
60	471	121
120	374	96
240	297	76
480	195	50

### ◆ Seuil de perception

Seuil olfactif : 20 ppm ( $78 \text{ mg.m}^{-3}$ ), sans odeur caractéristique. À forte concentration, il a cependant été rapporté que son odeur rappelle celle du trichlorométhane.



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 les "**seuils des effets létaux significatifs**" (SELS), les "**seuils des premiers effets létaux**" (SPEL), les "**seuils des effets irréversibles**" (SEI), les "**seuils des effets réversibles**" (SER) et le "**seuil de perception**" (SP).

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

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

Le ministère en charge de l'environnement a demandé à l'INERIS de lui proposer ces seuils de toxicité aiguë pour le bromure de méthyle, soumis à l'analyse du GT experts toxicologues du Ministère en Charge de l'Environnement.

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](http://www.ineris.fr)).

Les principales caractéristiques physico-chimiques du bromure de méthyle sont rassemblées dans le tableau ci-dessous :

Paramètre	Valeur/description	Référence
Nom chimique	Bromure de méthyle, bromométhane	
Numéro CAS	74-83-9	
Numéro EINECS	200-813-2	
Formule chimique	CH <sub>3</sub> Br	
Etat physique (température ambiante)	Gaz (incolore)	
Poids moléculaire	94,95 g.mol <sup>-1</sup>	AEGL, 2012
Tension de vapeur	1420 mmHg à 20°C	
Concentration de vapeur saturante à 20°C	7375,4 g.m <sup>-3</sup> soit environ 1,9.10 <sup>6</sup> ppm	Voir formule <sup>1</sup>
Densité vapeur (air=1)	3,97 g/L à 20°C	AEGL, 2012
Solubilité (eau)	1,75g/100g d'eau	
Température d'ébullition	3,56°C	
Température de fusion	-93,7°C	
Limite d'explosivité	Presque ininflammable ; limites d'inflammabilité situées entre 13,5% et 14,5% dans l'air	
Point éclair	537°C	
Conversion	1 ppm = 3,89 mg/m <sup>3</sup> à 25°C	
	1 mg/m <sup>3</sup> = 0,257 ppm	

<sup>1</sup>Calcul de la concentration de vapeur saturante à 20°C:

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

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

MM (masse molaire) = 94, 95 g.mol<sup>-1</sup>

R (constante des gaz parfaits) = 8,314 J. mol<sup>-1</sup>.K<sup>-1</sup>

T (température) = 293,15 K

Le bromure de méthyle est ubiquitaire dans l'environnement, car il est généré naturellement par les océans, la combustion de matière organique et par les plantes. Il est surtout employé comme pesticide en agriculture (herbicide, rodenticide, nématicide, insecticide, bactéricide et fongicide). Il est également utilisé comme intermédiaire réactionnel dans la fabrication des médicaments, comme dégraissant de la laine et comme agent d'extraction des huiles de noix, graines et plantes diverses. Historiquement, le bromure de méthyle a été utilisé dans les extincteurs (réfrigérant) et comme anesthésique par les dentistes (AEGL, 2012).

Il ne possède pas d'odeur caractéristique. À forte concentration, il a cependant été rapporté que son odeur rappelle celle du trichlorométhane.

### **3. VALEURS OFFICIELLES EXISTANTES**

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

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

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

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

Pour le bromure de méthyle, les valeurs des ERPG (2014) sont :

- ✓ **ERPG-1** : ND
- ✓ **ERPG-2** : 50 ppm
- ✓ **ERPG-3** : 200 ppm

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

- ✓ **AEGL 1**: concentration d'une substance chimique dans l'air (exprimée en ppm ou mg/m<sup>3</sup>) 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/m<sup>3</sup>) au-dessus de laquelle des effets irréversibles, des effets nocifs sévères ou des effets adverses 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/m<sup>3</sup>) 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 bromure de méthyle sont les suivantes :

<b>Durée (min)</b>	<b>10</b>	<b>30</b>	<b>60</b>	<b>240</b>	<b>480</b>
AEGL-1 (ppm)	ND	ND	ND	ND	ND
AEGL-2 (ppm)	940	380	210	67	67
AEGL-3 (ppm)	3300	1300	740	230	130

ND : non déterminé

Il existe également une valeur seuil IDLH (1987) correspondant à un niveau d'exposition maximale en milieu professionnel pour une durée de 30 minutes n'entravant pas l'évacuation des individus, ni n'induisant d'effets nocifs irréversibles. Pour le bromure de méthyle, cette valeur était initialement de 2000 ppm mais a été révisée à **250 ppm** en 1995. La valeur révisée provient de l'utilisation de données d'inhalation aiguë chez l'homme.

## **Classement du bromure de méthyle (tableau 3.1 de l'annexe VI du règlement (CE) N° 1272/2008) (consulté en juin 2020)**

Press. Gas		
Acute tox. 3*	H301	Toxique en cas d'ingestion
Acute tox. 3*	H331	Toxique par inhalation
Skin Irrit. 2	H315	Provoque une irritation cutanée
Eye Irrit. 2	H319	Provoque une sévère irritation des yeux
STOT SE 3	H335	Peut irriter les voies respiratoires
Muta. 2	H341	Susceptible d'induire des anomalies génétiques
STOT RE 2	H373	Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée
Aquatic Acute 1	H400	Très toxique pour les organismes aquatiques
Ozone 1	H420	Nuit à la santé publique et à l'environnement en détruisant l'ozone dans la haute atmosphère

« \* » : Classification minimum (issue de la transposition de l'ancienne classification vers la classification CLP)

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

### **4.1 DONNEES EPIDEMIOCLINIQUES**

La plupart des données épidémiologiques sont issues d'études sur des cas d'intoxications accidentelles lors d'opérations de production de bromure de méthyle, d'usage d'extincteurs en contenant, ou d'activités de fumigation agricole.

La dose estimée provoquant la mort chez l'homme est de 1600 à 60000 ppm suivant la durée d'exposition (ATSDR, 1992).

La cible principale du bromure de méthyle est le système nerveux central. Les symptômes principalement décrits sont des maux de tête, de troubles de la vision, vertiges, nausées, vomissements, irritations du système respiratoire, douleur abdominale, malaise, incoordination musculaire, tremblements des extrémités, convulsions, confusion mentale, dyspnée, œdème pulmonaire, coma et mort par collapsus respiratoire et cardiaque dans les cas les plus sévères (O'Neil, 2001).

La mort survient par insuffisance respiratoire et cardiaque. L'exposition à du bromure de méthyle est insidieuse car le bromure de méthyle n'a pas d'odeur ni de propriétés irritantes à faibles concentrations et du fait que les premiers symptômes sont souvent différés (Reid, 2001).

L'inhalation est la principale voie d'exposition, mais la voie cutanée est aussi envisageable. Les protections (vêtements) standards (avec protections respiratoires adaptées) ne permettent pas d'éviter l'apparition de lésions cutanées lors d'exposition de 20 minutes à environ 9000 ppm (Zwaveling *et al.*, 1987).

#### ✓ **Hustinx *et al.*, 1993**

L'auteur décrit une exposition accidentelle suite à la fumigation d'une serre.

Trois semaines avant l'accident, l'une des deux parties de la serre (les deux parties étant séparées par une paroi fine et peu étanche) est traitée avec du bromure de méthyle (200g/m<sup>2</sup>). Deux individus sur 5 travaillant dans la partie non traitée (concentrations mesurées de 25 ppm) ont présenté des nausées, vomissements et vertiges.

Trois semaines après, la veille de l'accident, neuf individus ont travaillé dans la serre non traitée (juxtant celle traitée 3 semaines auparavant). Leur travail a duré en moyenne 6 h (de 4h à 8h). De nombreux employés ont présenté des maux de tête et des nausées, et deux sont restés à domicile le lendemain.

Le jour de l'accident, la partie de la serre encore non traitée subit une fumigation, et les 7 employés ont travaillé dans la partie préalablement traitée trois semaines auparavant. Après 2h de travail, 6 individus sur les 7 ont présenté simultanément des nausées, vertiges et vomissements (l'un d'eux n'a ressenti que des brûlures dans la gorge). Les 7 individus ont quitté la serre et sont rentrés chez eux. Après 2h, deux individus ont été atteints de contractions musculaires des membres suivies de convulsions généralisées, nécessitant un coma induit par administration de thiopental sodique.

Les concentrations mesurées dans la serre non traitée le jour de l'accident à proximité de la cloison séparative étaient de 200 ppm et 150 ppm au plus loin de cette séparation, 5 h après l'accident, suggérant que les concentrations auxquelles les personnes ont été exposées, ont été supérieures à 200 ppm.

Après 3 jours d'hospitalisation, les examens pulmonaires ont pu mettre en évidence une infiltration unilatérale et une effusion pleurale, qui a subsisté au-delà des 10-14 jours d'observation. Le coma induit a été prolongé durant 3 semaines pour les deux cas sévères dont les neuropathies axonales étaient persistantes. Les symptômes ressentis par les ouvriers sont assez homogènes : maux de tête, nausée et sensation de flotter. Environ 19 jours après l'accident, ces symptômes ont disparu.

#### ✓ **Deschamps and Turpin, 1996, Garnier et al., 1996**

Les auteurs décrivent le cas d'ouvriers qui sont entrés dans un immeuble au cours d'une fumigation ; la concentration était de 4370 ppm (mesurée par chromatographie gazeuse / ionisation flamme). Les ouvriers étaient protégés par des masques respiratoires, saturés en quelques minutes étant donné la concentration. Les ouvriers n'ont pas respecté la consigne d'atteindre 5 ppm et ils ont ouvert la fenêtre et la porte au 9<sup>ème</sup> étage pendant 45 min à 1 h. Pendant leur trajet de retour à leur domicile, ils ont présenté des malaises, de la fatigue, des nausées, vomissements, douleurs thoraciques et une respiration rapide. Les ouvriers ont été hospitalisés après intensification des symptômes. L'un d'eux a également présenté des convulsions, une ataxie et une insuffisance rénale. Les tremblements et l'ataxie persistaient 5 mois après (dommages neurologiques permanents).

#### ✓ **Verberk et al., 1979**

Les auteurs ont analysé le brome sanguin, les perturbations de l'électro-encéphalogramme (EEG), la fonction hépatique (transaminases sériques), les protéines sériques, les modifications neurologiques chez 33 hommes chargés de la désinfection de serres. La durée d'emploi s'étend de quelques mois à 11 ans. La quantité de bromure de méthyle utilisée est de 1500 à 6000 kg. Aucune corrélation n'a pu être mise en évidence entre les concentrations sanguines en brome et les symptômes subjectifs, les déficits neurologiques ou les protéines sériques. Quelques rares modifications dans l'EEG et une légère augmentation des transaminases

sériques ont pu être corrélées aux concentrations sanguines en brome. Les auteurs précisent néanmoins qu'il s'agit d'effets marginaux.

## 4.2 DONNEES EXPERIMENTALES CHEZ LES VOLONTAIRES SAINS

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

## 5. DONNEES DE TOXICITE CHEZ L'ANIMAL

### 5.1 ETUDE DES EFFETS LETAUX

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

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

##### *Etudes réalisées chez le rat*

- **Kato et al., 1986 - Cotation 2** (L'étude est bien décrite et le protocole expérimental est proche de la ligne directrice OCDE 403. L'objectif principal de l'étude n'est cependant pas la mortalité aiguë ni la CL<sub>50%</sub> (résultats préliminaires) mais les effets et la relation dose réponse pour des expositions sub-aiguës).
  - ✓ **Espèce étudiée** : Rat Sprague-Dawley
  - ✓ **Conditions expérimentales**: Les analyses des concentrations d'exposition sont effectuées par un chromatographe (analyse effectuée toutes les 10 minutes).
  - ✓ **Concentrations d'exposition** : deux expérimentations séparées : 502, 622, 667, 799 ou 896 ppm et 701, 767, 808, 817 ou 832 ppm.
  - ✓ **Temps d'exposition** : 4 heures
  - ✓ **Temps d'observation**: 1 semaine
  - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : pour chaque expérimentations respectivement 5 et 10 mâles
  - ✓ **Lot témoin** : non précisé
- **Résultats** : La CL<sub>50%</sub> (méthode de Litchfield-Wilcoxon) pour 4 heures d'exposition (pour les deux expérimentations combinées) est de 780 ppm (intervalles de confiance 95% 760-810 ppm). La mortalité par estimation graphique est de 0% pour 502-701 ppm, 30% à 767 ppm, 60% à 799 ppm, 70% à 808 ppm, 80% à 817 ppm, et 100% à 832 et 896 ppm. Les signes cliniques ne sont pas décrits.
- **Zwart, 1988, Zwart et al., 1992 - Cotation 3** (Peu de détails expérimentaux, il est néanmoins précisé que le protocole suit une méthode proche de la ligne directrice OCDE 403 ; aucune donnée de mortalité n'est disponible dans la publication)

- ✓ **Espèce étudiée** : Rat SPF-Wistar.
- ✓ **Conditions expérimentales** : Les concentrations en bromure de méthyle sont analysées par détection du carbone total (FID). Les animaux sont exposés en nose-only.
- ✓ **Concentrations d'exposition** : concentrations non précisées.
- ✓ **Temps d'exposition** : 7 temps d'exposition de 3,5 à 480 min.
- ✓ **Temps d'observation** : 14 jours.
- ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : mâles ; approximativement 50 rats au total.
- ✓ **Lot témoin** : non précisé
- **Résultats** : Les CL<sub>50%</sub> calculées s'échelonnent de 19 460 ppm pour 3,5 minutes à 334 ppm pour 480 minutes. La CL<sub>50%</sub> pour 1 h est de 1 880 ppm. Beaucoup d'animaux présentent de nombreux signes cliniques tels qu'une incoordination des mouvements juste après exposition. La totalité de la mortalité est observée durant la première semaine. L'anatomo-pathologie révèle des poumons rouges et décolorés. Après deux semaines, un fluide clair, ou rouge est présent au niveau des poumons.

Les auteurs ont réalisé une relation dose-effet dont l'équation probit est la suivante :

$$-30,5 + 6,6\ln C + 5,5\ln T$$

$$n = 1,22$$

- **Honma et al., 1985 - Cotation 3** (exposition concomitante de bromure de méthyle et de disulfure de carbone. Les réponses neurotoxiques peuvent être modifiées)
  - ✓ **Espèce étudiée** : rat Sprague-Dawley
  - ✓ **Conditions expérimentales** : Les atmosphères sont monitorées avec un chromatographe-gaz couplé à un détecteur à ionisation de flamme. Les conditions d'exposition ne sont pas précisées. La solution de bromure de méthyle est préparée par dissolution de ce dernier (froid) dans du disulfure de carbone
  - ✓ **Concentrations d'exposition** : 268, 335, 402, 469, 536 ppm
  - ✓ **Temps d'exposition** : 8 heures
  - ✓ **Temps d'observation**: non spécifié
  - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 5 mâles
  - ✓ **Lot témoin** : non spécifié

- **Résultats** : Aucune mortalité n'est observée au-delà de 6 heures. La première mortalité observée est survenue entre 2 et 4h d'exposition à 536 ppm. La CL<sub>50%</sub> pour 8 heures d'exposition est de 302 ppm (intervalle de confiance 95% 267-340 ppm). Tous les rats ont survécu à l'exposition à 268 ppm et tous les rats sont morts à 402 ppm. L'autopsie a révélé une sévère hémorragie pulmonaire. La mort est précédée de convulsions chez de nombreux animaux. Un effet sédatif a pu être mis en évidence, effet qui est concentration dépendant.
  
- **Bakhishev, 1973 - Cotation 3** (Le document ne permet pas de juger de la qualité du protocole, ni des données obtenues)
  - ✓ L'auteur a exposé diverses espèces de mammifères (nombre et races non spécifiés) au bromure de méthyle pendant 30 minutes. Chez le rat, la CL<sub>50%</sub> calculée est de 2 830 ppm pour 30 minutes. Pour la souris, la CL<sub>50%</sub> est de 1 700 ppm, pour 30 minutes.
  
- **Japanese-Ministry-of-Labour, 1992 - Cotation 4** (seul un résumé en anglais est disponible, l'article complet, non disponible, est en japonais)
  - ✓ **Espèce étudiée** : Rats F344
  - ✓ **Conditions expérimentales**: non précisées
  - ✓ **Concentrations d'exposition** : 150, 225, 338, 506, 760 ou 1 140 ppm
  - ✓ **Temps d'exposition** : 4 heures
  - ✓ **Temps d'observation**: non précisé
  - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 10 mâles et 10 femelles
  - ✓ **Lot témoin** : non précisé
  
- **Résultats** : A partir de la concentration de 338 ppm, les signes cliniques observés sont une diminution de l'activité locomotrice, une ataxie, des écoulements nasals et lacrymaux, de la diarrhée, une respiration irrégulière et de la bradycardie. Tous les rats exposés à 760 et 1 140 ppm sont morts. Les autopsies ont révélé une congestion pulmonaire, une dégénérescence hépatique, une nécrose rénale, des hémorragies myocardiques, une nécrose et des hémorragies des glandes surrénales et une congestion du thymus. Les rats exposés à 225, 338 et 506 ppm présentent une métaplasie de l'épithélium olfactif et les rats survivants à 760 et 1 1140 ppm présentaient une nécrose de cet épithélium.

#### **Etudes réalisées chez la souris**

- **Alexeeff et al., 1985 - Cotation 3** (Les conditions expérimentales sont décrites partiellement et correspondent à des expositions par inhalation classiquement utilisées. Toutefois, les données de mortalité individuelles ne sont pas mentionnées, seul un graphique rapporte ces données en % de mortalité exprimé en probabilité)
  - ✓ **Espèce étudiée** : Souris Swiss-Webster
  - ✓ **Conditions expérimentales**: Les animaux sont exposés en « nose-only ». Les concentrations en bromure de méthyle sont mesurées par chromatographie gazeuse associée à un détecteur à ionisation de flamme.

- ✓ **Concentrations d'exposition** : 224, 443, 566, 700, 900, 984, 1 200, 1 486 et 1 527 ppm
  - ✓ **Temps d'exposition** : 1 heure
  - ✓ **Temps d'observation**: 1 semaine
  - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 6 mâles
  - ✓ **Lot témoin** : oui
- **Résultats** : Aucune mortalité n'est observée pour des concentrations  $\leq$  900 ppm. La CL<sub>50%</sub> estimée chez la souris pour une heure d'exposition est de 1 164 ppm. Les observations cliniques sont effectuées après exposition. Les souris exposées à 700 et 984 ppm présentent une hyperactivité transitoire au cours des 20 premières heures après exposition. Au-delà de 900 ppm, les signes cliniques sont principalement les suivants : démarche anormale, passivité, absence de toilettage, augmentation de l'amplitude respiratoire, diminution de la fréquence respiratoire, et tremblements (signes cliniques dose-dépendent en nombre et en temps d'apparition).
- Les observations cliniques qui précèdent la mort sont des fasciculations, pertes de réflexe, membres écartés, convulsions toniques, rigidité musculaire. Des hémorragies rectales surviennent pour les deux concentrations les plus élevées.
- Les comportements des souris exposées à 224, 443 ou 566 ppm ne sont pas différents des contrôles. Une perte de poids transitoire est notée pour l'ensemble des lots. Seuls les animaux exposés à des concentrations  $\geq$  900 ppm présentent une perte de poids durant la semaine d'observation. Une congestion et une hémorragie hépatiques sont observées à 1 200 ppm. L'hémorragie et la congestion cérébrales sont observées pour des concentrations  $\geq$  984 ppm. Par comparaison avec les témoins, les ratios poids du cerveau sur poids corporel diminuent pour l'exposition à 443 ppm et augmentent pour les concentrations à 700, 900 et 982 ppm. Le glutathion hépatique est réduit pour les expositions à 1 200 et 1 527 ppm.
- **Yamano, 1991- Cotation 3** (De nombreuses données brutes et conditions expérimentales ne sont pas disponibles)
    - ✓ **Espèce étudiée** : Souris ICR-SPF
    - ✓ **Conditions expérimentales**: non précisées
    - ✓ **Concentrations d'exposition** : 312, 357, 377, 449, 464 ppm
    - ✓ **Temps d'exposition** : 4 heures
    - ✓ **Temps d'observation**: non précisé
    - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 6 ou 10
    - ✓ **Lot témoin** : non précisé
- **Résultats** : Aucune mortalité n'est observée à 312 ppm. La mortalité se répartit comme suit : 10% à 357 et 377 ppm, 90% à 449 ppm, et 100% à 464 ppm. La CL<sub>50%</sub> pour 4h d'exposition est de 405 ppm (intervalles de confiance de 386-425 ppm).

Les taux de mortalité pour les souris exposées à 500 ppm se répartissent ainsi au cours du temps : 105, 120, 130, 140, 150 et 180 min respectivement 0, 0, 11, 15, 85 et 90% de mortalité.

- **Japanese-Ministry-of-Labour, 1992- Cotation 4** (seul un résumé en anglais est disponible, l'article complet, non disponible est en japonais)
  - ✓ **Espèce étudiée** : Souris BDF1
  - ✓ **Conditions expérimentales**: non précisées.
  - ✓ **Concentrations d'exposition** : 100, 150, 225, 338, 506 ou 760 ppm
  - ✓ **Temps d'exposition** : 4 heures
  - ✓ **Temps d'observation**: non précisé
  - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 10 mâles et 10 femelles
  - ✓ **Lot témoin** : non précisé
- **Résultats** : Toutes les souris exposées à 760 ppm sont mortes. Tous les animaux sauf 2 mâles sont morts à 506 ppm. A ces concentrations, les signes cliniques observés sont une diminution de l'activité locomotrice, des tremblements, convulsions, diarrhée, respiration irrégulière et bradypnée. Les souris exposées à 100, 150, 225 et 338 ppm n'ont présenté aucun signe clinique. L'autopsie des animaux exposés aux deux plus fortes concentrations a révélé une congestion pulmonaire, une dégénérescence et une nécrose hépatiques, une nécrose des tubules rénaux, caryorrhexie (fragmentation du noyau des cellules avec dissémination du matériel nucléaire dans le cytoplasme) du thymus et ganglions lymphatiques, et nécrose de l'épithélium olfactif. Une seule femelle a présenté une métaplasie de l'épithélium olfactif à la concentration de 338 ppm.

### 5.1.2 CHEZ LE LAPIN

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

### 5.1.3 CHEZ LE CHIEN

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

### 5.1.4 CHEZ LES PRIMATES NON HUMAINS

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

## 5.2 ETUDE DES EFFETS NON LETAUX

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

- **Hurt et al., 1988 - Cotation 2** (l'étude est de bonne qualité ; le protocole est comparable à un protocole standardisé ; les résultats sont par contre focalisés sur certaines fonctions physiologiques, en particulier l'olfaction)

- ✓ **Espèce étudiée** : Rat F344
- ✓ **Conditions expérimentales**: Les rats sont exposés dans des chambres corps entier. Le flux d'air est maintenu à 200 L/min et des échantillons sont prélevés toutes les 30 minutes en vue d'analyse par chromatographie gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme. Les dommages au niveau de l'épithélium olfactif sont évalués chez 3 rats/j à j0 et à j1 post-exposition pour l'exposition à 90 ppm et à j0 et j1, 3, 5 et 7 post-exposition pour l'exposition à 200 ppm.
- ✓ **Concentrations d'exposition** : 90 ou 200 ppm
- ✓ **Temps d'exposition** : 6 heures
- ✓ **Temps d'observation**: 1 semaine
- ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 6 (0 et 90 ppm) ou 15 (200 ppm)
- ✓ **Lot témoin** : oui
- **Résultats** : Au cours des expositions, aucun signe clinique n'est observé. L'exposition à 90 ppm n'a provoqué aucun effet observable sur la fonction d'olfaction ou la morphologie nasale (examen microscopique). Les rats exposés à 200 ppm ont pris moins de poids que les contrôles. L'exposition à 200 ppm pendant 6 heures a induit une destruction massive de l'épithélium olfactif, sans néanmoins atteindre les cellules basales. Les réparations cellulaires débutent 3 jours après exposition et sont complètes à 10 semaines (seules quelques petites zones présentent encore des lésions résiduelles). Aucune lésion de l'épithélium respiratoire antérieur n'est observée (sensitivité particulière de l'épithélium olfactif au bromure de méthyle).
- **Driscoll and Hurley, 1993 - Cotation 2** (publication originale non disponible, toutefois les conditions expérimentales décrites dans le dossier AEGL correspondent à une exposition par voie inhalation avec un protocole habituel)
  - ✓ **Espèce étudiée** : Rat Sprague-Dawley
  - ✓ **Conditions expérimentales**: Les concentrations sont vérifiées par un chromatographe en phase gazeuse équipé d'un détecteur à ionisation de flamme. Les animaux sont observés pour les signes cliniques et les modifications poids corporels. Une batterie de tests neurologiques et d'évaluation de l'activité motrice est réalisée 3h, 7 et 14 jours post-exposition. Un examen microscopique du tissu nasal, du cerveau, de la moelle épinière et des nerfs périphériques est pratiqué lors de l'autopsie, 16-19 jours après exposition.
  - ✓ **Concentrations d'exposition** : 30, 100 ou 350 ppm
  - ✓ **Temps d'exposition** : 6 heures
  - ✓ **Temps d'observation**: entre 16 et 19 jours
  - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 15 mâles et 15 femelles
  - ✓ **Lot témoin** : oui

➤ **Résultats** : Aucune mortalité n'est observée, et aucun effet sur le poids corporel ni les poids des organes (y compris cerveau). A 350 ppm, les signes cliniques sont : paupière tombante, excitation diminuée, piloérection, diminution de la température corporelle et une diminution marquée de l'activité motrice. Ces signes cliniques sont transitoires, ils surviennent seulement au cours des 3h post-exposition. Aucun élément ne permet de relier l'exposition à des modifications histologiques du système nerveux et des tissus nerveux. Le LOAEL (Lowest Observed Adverse Effect Level) et le NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) sont respectivement de 350 et 100 ppm.

- **Alexeeff et al., 1985 - Cotation 3** (Les conditions expérimentales sont décrites partiellement (voir description dans la section effets létaux) et correspondent à des expositions par inhalation classiquement utilisées)

Des tests d'évitement passifs et coordination motrice sont effectués chez la souris après exposition d'une heure à du bromure de méthyle. Les concentrations de 224 à 984 ppm n'affectent pas la capacité des animaux aux tests d'évitement passif. Les résultats au « rotarod test » (test locomoteur avec action motrice forcée) sont plus variables, mais les performances sont significativement différentes chez les animaux exposés versus témoins, en particulier pour les expositions à 1 486 et 1 527 ppm.

- **Honma et al., 1985 - Cotation 3** (exposition concomitante de bromure de méthyle et de disulfure de carbone. Les réponses neurotoxiques peuvent en être modifiées par l'effet mélange)

Les auteurs ont exposé des rats Sprague-Dawley à plusieurs concentrations de bromure de méthyle (63, 125, 188 ou 250 ppm) pendant 8 heures. Ils ont mesuré l'activité locomotrice et la température corporelle. Ces paramètres ne sont pas affectés par l'exposition à 63 ppm mais l'activité motrice est sévèrement diminuée et inhibée aux concentrations de 188 et 250 ppm respectivement ; la température corporelle est abaissée de 2°C. Ces effets sont réversibles et le retour à l'état normal a lieu le lendemain de l'exposition.

- **Reed et al., 1995 - Cotation 3** (détails expérimentaux peu fournis, l'exposition au bromure de méthyle étant le contrôle positif)

Des lots de 3 rats Wistar mâles sont exposés en « nose only » à du bromure de méthyle à la concentration de 200 ppm pendant 6 heures. Les atmosphères sont analysées par chromatographie couplée à un détecteur à ionisation de flamme. Ils sont euthanasiés 25h plus tard. Une dégénérescence de 95% de l'épithélium olfactif est observée, avec des remaniements cellulaires de une à deux couches cellulaires. Les lésions n'affectent pas l'épithélium de transition (entre les voies respiratoires supérieures et inférieures) ni l'épithélium respiratoire. Aucun autre détail n'est fourni dans l'étude (l'objet principal de l'étude est l'exposition à l'iodure de méthyle, l'exposition à du bromure de méthyle étant considérée comme un témoin positif).

- **Schwob et al., 1999 - Cotation 2** (Les conditions expérimentales sont bien décrites, le protocole expérimental conforme)

Les auteurs ont étudié la ré-innervation du bulbe olfactif après destruction complète par le bromure de méthyle (exposition de 330 ppm pendant 6 heures) chez des rats mâles Long-Evans. Le degré de réparation est évalué à 8 semaines après exposition ; il s'avère que les régénérations et la ré-innervation sont presque totales au terme des 8 semaines chez les animaux n'ayant pas de restrictions alimentaires.

### 5.2.2 CHEZ LE LAPIN

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

### 5.2.3 CHEZ LE CHIEN

- **Newton, 1994 - Cotation 4** (Données originales non disponibles)

L'étude présente les résultats de tests neurologiques chez des chiens exposés à du bromure de méthyle. Il s'agit de chiens Beagle exposés pendant 7 heures. Deux chiens sont testés à 345 ppm et un chien pour chacune des concentrations suivantes : 233, 314, 350 et 394 ppm. Des signes de neurotoxicité sont observés (tremblements, dos voûté, respiration laborieuse) au cours des 7 heures d'exposition, avec des premiers signes qui apparaissent à partir de 3 heures pour les 3 plus fortes concentrations et dans les 2 et 3 dernières heures d'exposition pour 233 et 314 ppm respectivement. La phase de post-exposition pour le chien exposé à 233 ppm n'a révélé aucun effet remarquable.

### 5.2.4 CHEZ LES PRIMATES NON HUMAINS

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

## 6. ANALYSE DES DONNEES DE TOXICITE

### 6.1 ANALYSE DES DONNEES DE MORTALITE

#### 6.1.1 ANALYSE QUALITATIVE

Le tableau suivant rapporte les études de létalité chez l'animal

Etudes (auteurs)	Espèce animale	Cotation	Justification
Kato, et al (1986)	Rat Sprague-Dawley	2	L'étude est bien décrite et le protocole expérimental est proche de la ligne directrice OCDE 403. L'objectif principal de l'étude n'est cependant pas la mortalité aiguë ni la CL <sub>50%</sub> (résultats préliminaires) mais les effets et la relation dose réponse pour des expositions sub-aiguës

Etudes (auteurs)	Espèce animale	Cotation	Justification
Zwart, et al (1988 et 1992)	Rat SPF-Wistar	3	Peu de détails expérimentaux, il est néanmoins précisé que le protocole suit une méthode proche de la ligne directrice OCDE 403 ; aucune donnée de mortalité n'est disponible dans la publication
Honma, et al (1985)	Rat Sprague-Dawley	3	Exposition concomitante de bromure de méthyle et de disulfure de carbone. Les réponses neurotoxiques peuvent être modifiées
Bakhishev (1973)	Mammifères	3	Le document ne permet pas de juger de la qualité du protocole, ni des données obtenues
Japanese Ministry of Labour (1992)	Rats F344	4	Seul un résumé en anglais est disponible, l'article complet, non disponible, est en japonais
Alexeef, et al (1985)	Souris swiss-webster	3	Les conditions expérimentales sont bien décrites et correspondent à des expositions par inhalation classiquement utilisées. Toutefois, les données de mortalité individuelles ne sont pas mentionnées, seul un graphique rapporte ces données en % de mortalité exprimé en probabilité
Yamano (1991)	Souris ICR-SPF	3	De nombreuses données brutes et conditions expérimentales ne sont pas disponibles
Japanese Ministry of Labour (1992)	Souris BDF-1	4	Seul un résumé en anglais est disponible, l'article complet, non disponible, est en japonais

Seule une étude répond à des critères de qualité pertinents correspondant aux conditions d'exposition accidentelle (espèces, conditions expérimentales). Il s'agit de l'étude de:

- **Kato et al., 1986 – cotation 2**

L'étude de Kato *et al*, 1986 est réalisée chez le rat et les données sont de bonne qualité.

### 6.1.2 ANALYSE QUANTITATIVE

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

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

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

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

$p$  est donc la probabilité qu'un individu choisi au hasard et exposé à une concentration  $C$  de substance pendant un temps  $\tau$  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  $C_i$
- $\tau_i$  : 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 été effectuée à l'aide du modèle Probit standard 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 ( $m$ ,  $\mu$  et  $\sigma$ ) ainsi obtenus par une analyse bayésienne. Les intervalles de confiance sont déterminés sous l'hypothèse d'une fonction de vraisemblance binomiale (Finney, 1971). L'annexe 4 donne les résultats obtenus par le logiciel standard-probit.

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 Kato et al, 1986, est la suivante :

$$Y = 9,009 \ln(\text{concentration}) - 59,901$$

Y est une fonction de l'équation probit.

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

## 6.2 ANALYSE DES EFFETS NON LETAUX

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

Concentration (ppm)	Temps (min)	Effets	Références
≥ 200	Plusieurs heures	Maux de tête, nausée, sensation de flotter, contractions musculaires, convulsions, infiltration et effusion pleurale, neuropathies axonales.	Hustinx <i>et al.</i> , 1993
4 370	45-60	Malaises, fatigue, nausée, vomissements, douleurs thoraciques, respiration rapide, convulsions, ataxie, insuffisance rénale, dommages neurologiques permanents.	Deschamps and Turpin, 1996, Garnier <i>et al.</i> , 1996

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

Concentration (ppm)	Temps (min)	Effets	Espèces	Références
200	360	Destruction massive de l'épithélium olfactif (sans atteinte des cellules basales) – réversible.	Rat F344	Hurt et al., 1988
350	360	Signes cliniques : paupière tombante, excitation diminuée, pilo-érection, diminution de la température corporelle et diminution marquée de l'activité motrice	Rat Sprague-Dawley	Driscoll and Hurley, 1993
350		LOAEL		
100		NOAEL		
1 486	60	Performances locomotrices altérées	Souris	Alexeeff <i>et al.</i> , 1985
1 527				
330	360	Destruction complète mais réversible (8 semaines) du bulbe olfactif	Rat Long-Evans	Schwob <i>et al.</i> , 1999

## **7. REVUE DES RESULTATS**

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

Le mécanisme d'action du bromure de méthyle est encore mal connu à l'heure actuelle, néanmoins certaines hypothèses ont été formulées :

- La toxicité au niveau du système nerveux central (SNC) résulterait de la méthylation des résidus sulfhydryl d'enzymes et de protéines du SNC. Cette toxicité serait donc médiée par la déplétion en glutathion dans les tissus du système nerveux central via l'inhibition de l'activité GST (glutathion sulfhydryl transférase) (Davenport *et al.*, 1992).
- Il est également suggéré que la toxicité au niveau du SNC serait due à la formation de méthaneéthiol et de formaldéhyde comme métabolites toxiques du bromure de méthyle (Garnier *et al.*, 1996).
- La destruction spécifique de l'épithélium olfactif nasal au niveau local (et non au niveau de l'épithélium respiratoire) n'est pas encore complètement expliquée ; elle pourrait être due à l'inhibition spécifique de l'activité GST au niveau de l'épithélium olfactif nasal (Thomas *et al.*, 1989).

Dans tous les cas, le mécanisme d'action du bromure de méthyle est plutôt à la fois systémique (atteintes du système nerveux central) et local (destruction de l'épithélium olfactif).

Il semble qu'il existe une différence de sensibilité entre les différentes espèces. La CL<sub>50%</sub> 1h chez le rat est de 1 880 ppm (Zwart, 1988) et de 1 200 ppm chez la souris (Alexeeff *et al.*, 1985). Cette sensibilité accrue peut s'expliquer par une plus forte concentration de GST tissulaire chez la souris et par une fréquence respiratoire plus importante. La concentration en GST chez l'homme est plus faible que chez la souris (et le rat), ce qui impliquerait une sensibilité moindre chez l'homme (Andersen *et al.*, 1987). De plus, le taux d'activation des mono- et di-halométhanés en métabolites toxiques *via* la voie GST est plus faible chez l'homme que chez les rongeurs (Griem *et al.*, 2002).

La plus faible sensibilité attendue chez l'homme à la toxicité du bromure de méthyle permet de ne pas utiliser de facteur inter-espèce.

## 7.2 SEUILS D'EFFETS LÉTAUX CHEZ L'HOMME

L'annexe 2 donne les CL<sub>01</sub>, CL<sub>05</sub> et CL<sub>50</sub> pour le bromure de méthyle ainsi que leurs intervalles de confiance pour une durée d'exposition de 240 minutes. Les valeurs obtenues pour les CL<sub>01</sub> et CL<sub>05</sub> sont les suivantes (application de la méthodologie française, avec n = 3 pour les durées inférieures à 240 min et n = 1 pour les durées supérieures à 240 min) :

CL <sub>01</sub> (ppm)		CL <sub>05</sub> (ppm)	
Temps (min)		Temps (min)	
1	3 705	1	3 998
10	1 720	10	1 856
20	1 365	20	1 473
30	1 192	30	1 287
60	946	60	1 021
120	751	120	810
240	596	240	643
480	298	480	322

La plus faible sensibilité attendue chez l'homme à la toxicité du bromure de méthyle permet de ne pas utiliser de facteur inter-espèce. Ces valeurs sont proposées pour la fixation des seuils des effets létaux en cas d'émission accidentelle de bromure de méthyle :

TEMPS (min)	SELS	
	mg.m <sup>-3</sup>	ppm
1	15552	3 998
10	7220	1 856
20	5730	1 473
30	5006	1 287
60	3972	1 021
120	3151	810
240	2501	643
480	1253	322

TEMPS (min)	SPEL	
	mg.m <sup>-3</sup>	ppm
1	14412	3 705
10	6691	1 720
20	5310	1 365
30	4637	1 192
60	3680	946
120	2921	751
240	2318	596
480	1159	298

$$Y = 9,009 \ln(\text{concentration}) - 59,901$$

### 7.3 SEUILS DES EFFETS IRREVERSIBLES

La détermination des seuils d'effets irréversibles (SEI) n'a pas été possible à la vue des études disponibles. Les effets cliniques observés pour les concentrations non létales (destruction de l'épithélium olfactif) sont en général réversibles.

En l'absence de données sur les effets irréversibles, il est proposé d'utiliser une méthode calculatoire pour la détermination des seuils d'effets irréversibles. La méthode calculatoire de la méthodologie française qui consiste à appliquer un facteur 1/3 ou 1/9 au tiers de la CL<sub>01</sub> selon qu'il s'agisse d'effets locaux ou systémiques a été suivie. Elle conduit à des seuils des effets irréversibles inférieurs aux seuils des effets réversibles. Ainsi, la méthode calculatoire a été adaptée, pour prendre en compte le fait que les effets irréversibles sont probablement très proches de la dose létale. Elle consiste à se baser sur la limite basse de l'intervalle de confiance de la CL<sub>01</sub> et d'appliquer un facteur d'incertitude de 3 pour tenir compte des variations intra-espèce. D'après l'annexe 2, la limite basse de l'intervalle de confiance de la CL<sub>01</sub> est de 469 ppm pour 240 minutes d'exposition.

Les seuils des effets irréversibles calculatoires (SEIc) sont donc les suivants (extrapolation aux autres temps d'exposition en utilisant la loi de Haber avec n = 3

pour les durées inférieures à 240 min et n = 1 pour les durées supérieures à 240 min, tel que décrit dans la méthodologie française) :

TEMPS (min)	SEI <sub>c</sub>	
	mg.m <sup>-3</sup>	ppm
1	3 779	972
10	1 754	451
20	1 392	358
30	1 216	313
60	965	248
120	766	197
240	608	156
480	304	78

#### 7.4 SEUILS DES EFFETS REVERSIBLES

Les seuils d'effets réversibles pour le bromure de méthyle peuvent être calculés à partir des résultats de l'étude de Hurtt *et al.*, 1988 chez le rat. Il a été noté que l'exposition à 200 ppm pendant 6 heures a induit une destruction massive de l'épithélium olfactif, sans néanmoins atteindre les cellules basales. Les réparations cellulaires débutent 3 jours après exposition et sont complètes à 10 semaines.

Un facteur d'incertitude de 3 peut être utilisé pour prendre en compte la variabilité intra-espèce. Ce facteur est suffisant compte-tenu de l'effet local qui est constaté (destruction tissulaire de l'épithélium olfactif). Les seuils des effets réversibles sont donc les suivants (application de la méthodologie française, avec n = 3 pour les durées inférieures à 360 min et n = 1 pour les durées supérieures à 360 min) :

TEMPS (min)	SER	
	mg.m <sup>-3</sup>	ppm
1	1845	474
10	856	220
20	680	175
30	594	153
60	471	121
120	374	96
240	297	76
480	195	50

## 7.5 SEUIL DE PERCEPTION

Le bromure de méthyle n'a presque pas d'odeur ni d'effet irritant. À forte concentration, son odeur rappelle celle du trichlorométhane. Les seuils d'odeurs rapportés dans la littérature sont de 20 ppm à 1000 ppm (Ruth, 1986). Le seuil olfactif proposé se base sur l'étude Ruth, 1986 et est de 20 ppm (78 mg.m<sup>-3</sup>).

## 8. CONCLUSION

### ◆ Seuils d'effets létaux

TEMPS (min)	SELS	
	mg.m <sup>-3</sup>	ppm
1*	15 552	3 998
10	7 220	1 856
20	5 730	1 473
30	5 006	1 287
60	3 972	1 021
120	3 151	810
240	2 501	643
480	1 253	322

TEMPS (min)	SPEL	
	mg.m <sup>-3</sup>	ppm
1*	14 412	3 705
10	6 691	1 720
20	5 310	1 365
30	4 637	1 192
60	3 680	946
120	2 921	751
240	2 318	596
480	1 159	298

$$Y = 9,009 \ln(\text{concentration}) - 59,901$$

◆ **Seuils d'effets irréversibles**

TEMPS (min)	SEI <sub>c</sub>	
	mg.m <sup>-3</sup>	ppm
1*	3 779	972
10	1 754	451
20	1 392	358
30	1 216	313
60	965	248
120	766	197
240	608	156
480	304	78

◆ **Seuils d'effets réversibles**

TEMPS (min)	SER	
	mg.m <sup>-3</sup>	ppm
1*	1845	474
10	856	220
20	680	175
30	594	153
60	471	121
120	374	96
240	297	76
480	195	50

◆ **Seuil de perception**

Le seuil olfactif proposé est de 20 ppm (78 mg.m<sup>-3</sup>).

## 9. REFERENCES

- AEGL (2012). "Acute Exposure Guideline Levels for Selected Airborne Chemicals." **12**: 171-232.
- Alexeeff, G. V., W. W. Kilgore, P. Muñoz and D. Watt (1985). "Determination of acute toxic effects in mice following exposure to methyl bromide." J Toxicol Environ Health **15**(1): 109-123.
- Andersen, M. E., H. J. Clewell, 3rd, M. L. Gargas, F. A. Smith and R. H. Reitz (1987). "Physiologically based pharmacokinetics and the risk assessment process for methylene chloride." Toxicol Appl Pharmacol **87**(2): 185-205.
- ATSDR (1992). "Toxicological profile for bromomethane."
- Bakhishev, G. N. (1973). "Relative toxicity of aliphatic halohydrocarbons to rats [in russian]." Farmakol. Toksikol **8**: 140-142.
- Davenport, C. J., S. F. Ali, F. J. Miller, G. W. Lipe, K. T. Morgan and M. S. Bonnefoi (1992). "Effect of methyl bromide on regional brain glutathione, glutathione-S-transferases, monoamines, and amino acids in F344 rats." Toxicol Appl Pharmacol **112**(1): 120-127.
- Deschamps, F. J. and J. C. Turpin (1996). "Methyl bromide intoxication during grain store fumigation." Occup Med (Lond) **46**(1): 89-90.
- Driscoll, C. D. and J. M. Hurley (1993). Methyl bromide : single exposure vapor inhalation neurotoxicity study in rats, Bushy Run Research Center, export, PA, for the methyl bromide industry panel, Chemicals Manufacturers Association, Washington, DC.
- Finney, D. J. (1971). "Probit analysis." Cambridge, University Press London. 3rd.
- Garnier, R., M. O. Rambourg-Schepens, A. Muller and E. Hallier (1996). "Glutathione transferase activity and formation of macromolecular adducts in two cases of acute methyl bromide poisoning." Occup Environ Med **53**(3): 211-215.
- Griem, P., M. Hassauer, F. Kaberlah, J. Oltmanns, J. Scheibner, K. Schneider and U. Schuhmacher-Wolz (2002). "Quantitative differences in xenobiotics metabolism between experimental animals and humans." Federal Institute for Occupational Safety and Health, Dortmund, Germany.
- Honma, T., M. Miyagawa, M. Sato and H. Hasegawa (1985). "Neurotoxicity and metabolism of methyl bromide in rats." Toxicol Appl Pharmacol **81**(2): 183-191.
- Hurt, M. E., D. A. Thomas, P. K. Working, T. M. Monticello and K. T. Morgan (1988). "Degeneration and regeneration of the olfactory epithelium following inhalation exposure to methyl bromide: Pathology, cell kinetics, and olfactory function." Toxicology and Applied Pharmacology **94**(2): 311-328.
- Hustinx, W. N., R. T. van de Laar, A. C. van Huffelen, J. C. Verwey, J. Meulenbelt and T. J. Savelkoul (1993). "Systemic effects of inhalational methyl bromide poisoning: a study of nine cases occupationally exposed due to inadvertent spread during fumigation." Br J Ind Med **50**(2): 155-159.
- Japanese-Ministry-of-Labour (1992). "Toxicology and carcinogenesis studies of methyl bromide in F344 rats and BDF mice (inhalations studies)." Industrial safety and health association: 197.
- Kato, N., S. Morinobu and S. Ishizu (1986). "Subacute inhalation experiment for methyl bromide in rats." Ind Health **24**(2): 87-103.

- Newton, P. E. (1994). An Up-and-Down Acute Inhalation Toxicity Study of Methyl Bromide in the Dog, Pharmaco LSR, East Millstone, NJ.
- O'Neil, M. J., Smith A., Heckelma, P. (2001). The merck index : an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals, 13th ed.
- Reed, C. J., B. A. Gaskell, K. K. Banger and E. A. Lock (1995). "Olfactory toxicity of methyl iodide in the rat." Archives of Toxicology **70**(1): 51-56.
- Reid, J. B. (2001). Saturated methyl halogenated hydrocarbons. Patty's Toxicology. N. J. W. Sons. **5**: 12-26.
- Ruth, J. H. (1986). "Odor thresholds and irritation levels of several chemical substances: a review." Am Ind Hyg Assoc J **47**(3): A142-151.
- Schwob, J. E., S. L. Youngentob, G. Ring, C. L. Iwema and R. C. Mezza (1999). "Reinnervation of the rat olfactory bulb after methyl bromide-induced lesion: Timing and extent of reinnervation." The Journal of Comparative Neurology **412**(3): 439-457.
- Thomas, D. A., S. A. Lacy and K. T. Morgan (1989). "Studies on the mechanisms of methyl bromide induced olfactory toxicity." Toxicologist **9**(37).
- Verberk, M. M., T. Rooyakkers-Beemster, M. de Vlieger and A. G. van Vliet (1979). "Bromine in blood, EEG and transaminases in methyl bromide workers." Br J Ind Med **36**(1): 59-62.
- Yamano, Y. (1991). "[Experimental study on methyl bromide poisoning in mice. Acute inhalation study and the effect of glutathione as an antidote]." Sangyo Igaku **33**(1): 23-30.
- Zwart, A. (1988). Acute inhalation study of methyl bromide in rats, TNO: 17 pp.
- Zwart, A., J. H. E. Arts, W. F. ten Berge and L. M. Appelman (1992). "Alternative acute inhalation toxicity testing by determination of the concentration-time-mortality relationship: Experimental comparison with standard LC50 testing." Regulatory Toxicology and Pharmacology **15**(3): 278-290.
- Zwaveling, J. H., W. L. de Kort, J. Meulenbelt, M. Hezemans-Boer, W. A. van Vloten and B. Sangster (1987). "Exposure of the skin to methyl bromide: a study of six cases occupationally exposed to high concentrations during fumigation." Hum Toxicol **6**(6): 491-495.

## 10. LISTE DES ANNEXES

<b>Repère</b>	<b>Désignation</b>	<b>Nombre de pages</b>
Annexe 1	Critères pour la cotation de Klimisch (1997)	1
Annexe 2	Sortie du logiciel	3

## Annexe 1

### Critères pour la cotation de Klimisch (1997)

Cotation	Catégorie de validité
<b>1</b>	<b>Valide sans restriction</b>
- 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.
<b>2</b>	<b>Valide avec restriction</b>
- 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
<b>3</b>	<b>Non valide</b>
- 3a	- Document insuffisant pour l'évaluation
- 3b	- Déficiences méthodologiques significatives
- 3c	- Protocole inconcevable
<b>4</b>	<b>Non évaluable</b>
- 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 Probit

### Simulations output

Binary regression with the single tau standard probit model

#### 1/ The data

Substance : Bromure de méthyle

Species : rat

Study reference : Sprague-Dawley

Number of groups : 10

Concentration	Time	N_obs	N_incid
502	240	5	0
622	240	5	0
667	240	5	0
799	240	5	3
896	240	5	5
701	240	10	0
767	240	10	3
808	240	10	7
817	240	10	8
832	240	10	10

## 2/ Model parameter estimates and their confidence intervals

**Model parameter estimates**

	Estimate*	95% Confidence Interval
mu	6.649	[6.6,6.69]
sigma	0.111	[0.104,0.208]

\* The estimate is obtained from maximum posterior vector.

Effective toxic dose is approximately :

$$9.009 \ln(C) - 59.901$$

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

**Reference concentrations LC1% and their 95% confidence intervals**

Time	estimate	95% Confidence Interval
240	596.173	[469,616]

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

Time	estimate	95% Confidence Interval
240	643.28	[540,664]

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

Time	estimate	95% Confidence Interval
240	772.174	[736,805]

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

