

RAPPORT D'ÉTUDE  
N°04DR069

03/06/2005

**Seuils de Toxicité aiguë  
Acide sulfurique**

# Seuils de Toxicité aiguë – Acide sulfurique

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

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

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

## PREAMBULE

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

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

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

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

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

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

## TABLE DES MATIERES

<b>1. RÉSUMÉ.....</b>	<b>4</b>
<b>2. INTRODUCTION .....</b>	<b>7</b>
<b>3. VALEURS OFFICIELLES EXISTANTES .....</b>	<b>9</b>
<b>4. DONNÉES DE TOXICITÉ CHEZ L'HOMME .....</b>	<b>11</b>
4.1 Données épidémiocliniques .....	7
4.2 Données expérimentaleschez les Volontaires Sains.....	9
<b>5. DONNÉES DE TOXICITE CHEZ L'ANIMAL .....</b>	<b>15</b>
5.1 Etude des effets létaux.....	15
5.2 Etude des effets non létaux.....	20
<b>6. ANALYSE DES DONNÉES DE TOXICITÉ .....</b>	<b>36</b>
6.1 Analyse des données de mortalité .....	36
6.2 Analyse des effets non létaux .....	38
<b>7. REVUE DES RESULTATS.....</b>	<b>38</b>
7.1 Extrapolation des données expérimentales de l'animal à l'homme .....	43
7.2 Seuils d'effets létaux chez l'homme.....	43
7.3 Seuils des effets irréversibles.....	44
7.4 Seuils des effets réversibles.....	44
7.5 Seuil de perception .....	45
<b>8. CONCLUSION.....</b>	<b>46</b>
<b>9. RÉFÉRENCES .....</b>	<b>48</b>
<b>10. LISTE DES ANNEXES .....</b>	<b>52</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 du 20 novembre 2003.

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

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

### ♦ **Seuils d'effets létaux**

TEMPS (min)	S.E.L. 1%	
	mg/m <sup>3</sup>	ppm
1	942	231
10	530	130
20	449	110
30	400	98
60	339	83
120	286	70
240	237	58
480	200	49

TEMPS (min)	S.E.L. 5%	
	mg/m <sup>3</sup>	ppm
1	1338	328
10	751	184
20	632	155
30	571	140
60	477	117

120	404	99
240	339	83
480	286	70

$$Y = 1,96 \ln(\text{concentration}) + 0,49 \ln(\text{temps}) - 12,99$$

$$n = 1,96/0,49 = 3,98 \quad \text{IC95 [11,70 - 1,72]}$$

#### ◆ Seuils d'effets irréversibles

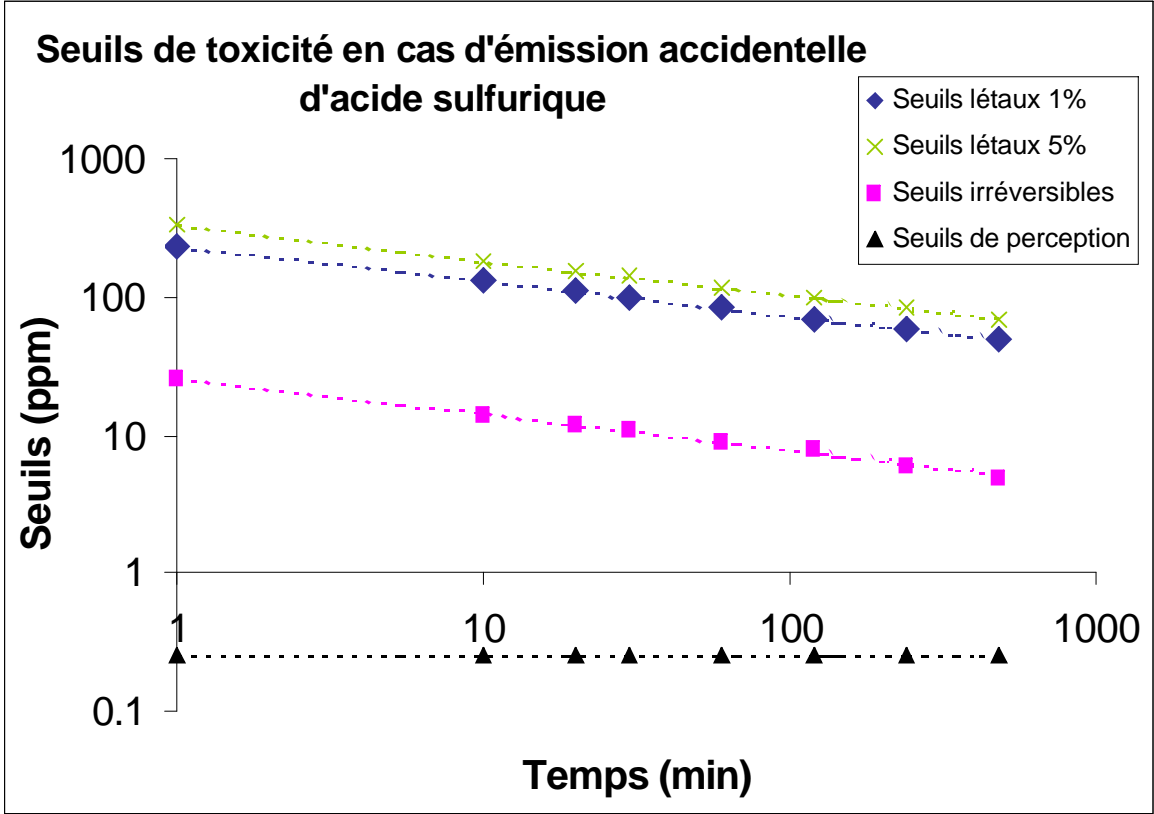
TEMPS (min)	S.E.I.	
	mg/m <sup>3</sup>	ppm
1	106	26
10	57	14
20	49	12
30	45	11
60	37	9
120	33	8
240	24	6
480	20	5

#### ◆ Seuils d'effets réversibles

Les données de la littérature ne sont pas suffisantes pour permettre la détermination de seuils des effets réversibles pour l'acide sulfurique.

#### ◆ Seuil de perception

Seuil proposé : 0,25 ppm.



## **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.

Trois types d'effets toxiques ont été définis :

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

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

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

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

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

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

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

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

Les seuils sont élaborés par un groupe d'experts toxicologues en suivant la "Méthodologie de détermination des seuils des effets létaux, des effets irréversibles, des effets réversibles et de perception" lors d'émission accidentelle



d'une substance chimique dans l'atmosphère qui a été adoptée le 20 novembre 2003 et consultable sur le site Internet de l'INERIS ([www.ineris.fr](http://www.ineris.fr)).

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

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

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

Le but de cette étude était de déterminer des « valeurs seuils » pour le trioxyde de soufre et l'acide sulfurique. Mais devant le peu de données dans la littérature concernant le trioxyde de soufre (cf chap 4), seul l'acide sulfurique a été retenu pour la détermination de seuils de toxicité aiguë.

Les principales caractéristiques physico-chimique de l'acide sulfurique sont rassemblées dans le tableau ci-dessous :

<b>Paramètre</b>	<b>Valeur/description</b>	<b>Référence</b>
Nom chimique	Acide sulfurique	INRS, 1997
Numéro CAS	7664-93-9	INRS, 1997
Formule chimique	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	INRS, 1997
Etat physique	Liquide à 20°C	INRS, 1997
Poids moléculaire	98,08 g.mol <sup>-1</sup>	INRS, 1997
Tension de vapeur	-	-
Densité	1,836	INRS, 1997
Solubilité	-	-
Température d'ébullition/fusion	290°C / 10,49°C	INRS, 1997
Limite d'explosivité	-	-
Conversion	1 mg/m <sup>3</sup> = 0,24 ppm 1 ppm = 4,08 mg/m <sup>3</sup> (20°C, 1013 hPa)	INRS, 1997

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

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

<b>Temps (min)</b>	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>60</b>	<b>120</b>
<b>Effets létaux</b>	Extrapolation SEI de E.R.P.G.-3				
<b>S.E.L. (ppm)</b>	18	12	10	7	5
<b>Effets irréversibles</b>	Extrapolation SEI de E.R.P.G.-2				
<b>S.E.I. (ppm)</b>	5,9	4	3,4	2,4	1,7
<b>Odeur</b>	ND*				

ND\* = Non Disponible

Aucun seuil d'effets létaux et irréversibles n'a été établi pour l'acide sulfurique.

Par ailleurs, aux **Etats-Unis**, l'**AIHA** (American Industrial Hygienist Association) publie des valeurs **E.R.P.G.** (Emergency Response Planning Guidelines) en cas d'émission de substances toxiques pour une exposition d'une heure.

L'AIHA définit trois seuils d'effets correspondant à trois niveaux : E.R.P.G.-1, E.R.P.G.-2, E.R.P.G.-3. Les définitions (en anglais) sont les suivantes :

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

Les valeurs d'E.R.P.G. (2002) établies pour le trioxyde de soufre sont les mêmes que celles établies pour l'acide sulfurique. Ces valeurs sont les suivantes :

- **E.R.P.G.-1** : 0,48 ppm (2 mg/m<sup>3</sup>)

- **E.R.P.G.-2** : 2,4 ppm (10 mg/m<sup>3</sup>)
- **E.R.P.G.-3** : 7,2 ppm (30 mg/m<sup>3</sup>)

De plus, le comité **A.E.G.L.s** (Acute Exposure Guideline Levels) a publié au Federal Register de juin 2004 les valeurs A.E.G.L.s de l'acide sulfurique. Ces valeurs ont le statut de "proposed" A.E.G.L.s. Les définitions de ces valeurs A.E.G.L.s (en anglais) sont:

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

<b>Durée (min)</b>	<b>10</b>	<b>30</b>	<b>60</b>
A.E.G.L.-1 (ppm)	0,05	0,05	0,05
A.E.G.L.-2 (ppm)	2,1	2,1	2,1
A.E.G.L.-3 (ppm)	65	48	38

**Rappel** : Il existe également une valeur seuil I.D.L.H. 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. Aucune valeur I.D.L.H. n'a été établie pour le trioxyde de soufre. Par contre, pour l'acide sulfurique, cette valeur est de 19 ppm (80 mg/m<sup>3</sup>) (1971). Elle a été révisée en 1995 et vaut 3,6 ppm (15 mg/m<sup>3</sup>).

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

Le trioxyde de soufre est un liquide incolore, mais il peut également exister sous forme de glace, de fibres ou encore sous forme de gaz. Le trioxyde de soufre est utilisé comme intermédiaire, notamment dans la production d'acide sulfurique et de certains explosifs. Dans l'air, le trioxyde de soufre est peu abondant car il réagit violemment avec l'eau pour former de l'acide sulfurique. Ainsi, les effets induits par une inhalation de trioxyde de soufre sont similaires à ceux induits par une exposition à de l'acide sulfurique.

Très peu d'informations sont disponibles concernant l'effet induit par une exposition aiguë au trioxyde de soufre. C'est un produit irritant et corrosif pour les muqueuses. Il peut induire une toux et une gêne respiratoire sévère est ressentie chez l'homme à une concentration de 1 ppm.

L'acide sulfurique est un liquide huileux incolore très corrosif. Il est utilisé dans l'industrie pour la fabrication d'engrais, d'explosifs, d'acides, de colles et de batteries ainsi que dans la purification du pétrole. L'acide sulfurique est retrouvé dans l'atmosphère sous forme d'un aérosol composé de petites gouttelettes qui peuvent également se lier à d'autres particules présentes dans l'atmosphère.

Les études sur la toxicité de l'acide sulfurique chez l'homme sont relativement nombreuses. L'acide sulfurique est une substance très corrosive et irritante qui induit des effets locaux au niveau de la peau, des yeux et du tractus respiratoire lors d'une exposition aiguë. Le contact de cet acide avec la peau ou les yeux produit des brûlures sévères (ATSDR, 1998). Dans les voies respiratoires, les effets induits par les particules d'acide sulfurique dépendent du niveau de pénétration des particules. La population générale est, le plus souvent, exposée à des particules d'acide sulfurique comprises entre 0,3 et 0,6  $\mu\text{m}$ , alors que les aérosols industriels sont de l'ordre de 1,4  $\mu\text{m}$ .

### **4.1 DONNEES EPIDEMIOCLINIQUES**

Très peu d'études épidémiocliniques sont disponibles concernant le trioxyde de soufre. Deux études concernant le trioxyde de soufre ont été retrouvées dans la littérature :

#### **◆ Kikuchi (2001) – Trioxyde de soufre**

Cette étude a mis en évidence une augmentation très claire de pathologies respiratoires telles que l'asthme et l'emphysème dans une région du Japon occupée par un immense complexe d'usines pétrochimiques et de raffineries. L'auteur de cette étude a relié cette augmentation à la concentration de trioxyde de soufre dans l'air dont la moyenne était de 130  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (419 ppm).

#### ◆ **Stueven et al. (1993) – Trioxyde de soufre**

Cette étude de cas rapporte les effets liés à une exposition au trioxyde de soufre chez 12 éleveurs (11 hommes et 1 femme) travaillant en plein air près d'une usine chimique. La durée de l'exposition a été d'environ 2 heures. Parmi les personnes exposées, 9 ont été admises aux urgences. A leur arrivée à l'hôpital, les patients présentaient des symptômes variés : douleur pleurétique (3 individus), oppression thoracique (2 individus), gêne à la poitrine (1 individu), irritations oculaires (3 individus), étourdissements (2 individus), sensation d'ébriété (1 individu), toux (1 individu). De plus, une personne a ressenti un goût acide dans la bouche associé à une irritation nasale.

Cependant, en raison de la faible stabilité du trioxyde de soufre, la plupart des individus (population générale et milieu professionnel) sont exposés à un mélange de trioxyde de soufre et d'acide sulfurique ou bien à de l'acide sulfurique seul. Trois études rapportent des cas d'accidents survenus chez des salariés, mais les concentrations en acide sulfurique ne sont pas connues. Les deux études rapportant des cas d'exposition accidentelle à l'acide sulfurique chez le salarié ont montré que l'exposition aiguë à de fortes concentrations mais non connues d'acide sulfurique induit des irritations et des lésions du système respiratoire. Ceci a été confirmé par des expérimentations animales.

#### ◆ **Goldman et Hill (1953)**

Au cours de son travail, un homme de 40 ans a été accidentellement exposé à de l'acide sulfurique fumant (mélange d'acide sulfurique sous forme d'aérosol et de trioxyde de soufre) puis pendant 8 minutes à un aérosol d'acide sulfurique généré par la réaction entre l'acide sulfurique fumant et l'eau. Les concentrations auxquelles l'homme a été exposé ne sont pas connues. Cet homme a été sévèrement brûlé au visage ainsi qu'à différents niveaux du corps. Des difficultés respiratoires se sont également développées rapidement après l'exposition. Dix huit mois après l'accident, le patient souffre encore d'une fibrose pulmonaire incapacitante, d'une bronchectasie résiduelle (augmentation irréversible du calibre des bronches) et d'un emphysème pulmonaire.

#### ◆ **Gamble et al. (1984)**

Deux cent vingt cinq travailleurs répartis dans 5 usines fabriquant des batteries électriques ont été équipés d'analyseur personnel d'acide sulfurique. Parallèlement, ils ont reçu un questionnaire médical et ont été soumis à des tests spirométriques.

Les résultats ont mis en évidence que la plupart des personnels sont exposés à des aérosols d'acide sulfurique (particules de 2,6 à 10  $\mu\text{m}$ ) dont la concentration est inférieure à 1  $\text{mg}/\text{m}^3$  (0,245 ppm).

Après une période d'adaptation, aucun symptôme ou réduction des fonctions pulmonaires n'a été mis en évidence lors de cette étude.

#### ◆ Knapp et al. (1991)

Cette étude rapporte le cas d'un homme de 23 ans en bonne santé, qui a été accidentellement exposé à une concentration importante mais inconnue de fumées d'acide sulfurique. L'homme a été dans l'incapacité de fuir et a donc été exposé pendant 30 minutes à la substance. A l'arrivée des secours, cet homme souffrait d'un syndrome de détresse respiratoire. Il a survécu à cette exposition mais a été de nouveau hospitalisé pour un abcès pulmonaire. A l'issue du traitement, ses fonctions respiratoires sont normales et aucun œdème pulmonaire n'a été observé.

## 4.2 DONNEES EXPERIMENTALES CHEZ DES VOLONTAIRES SAINS

***Aucune étude concernant le trioxyde de soufre n'est disponible.***

Les études d'exposition aiguë par inhalation de volontaires sains à l'acide sulfurique ont montré que les symptômes induits par des concentrations inférieures à 1 mg/m<sup>3</sup> (0,24 ppm) d'acide sulfurique sont une légère irritation et des changements de la clairance mucociliaire pulmonaire des particules. A ces concentrations, aucune altération des fonctions pulmonaires n'est généralement constatée. Les effets (diminution ou augmentation) sur la clairance mucociliaire sont variables et dépendent de la concentration en acide sulfurique, du temps d'exposition et des individus. Une altération de la clairance bronchique peut également être observée à une concentration d'acide sulfurique aussi faible que 0,3 mg/m<sup>3</sup> (0,074 ppm).

#### ◆ Amdur et al. (1952a)

Dans cette étude, des volontaires sains (nombre non précisé) d'âges variables ont été exposés à des concentrations d'aérosol d'acide sulfurique de 0,35, 0,4, 0,5, 1, 2 et 5 mg/m<sup>3</sup> pendant un temps d'exposition variant entre 5 et 15 minutes. Chaque individu est son propre témoin. La fréquence respiratoire, le VEMS et le VIMS ainsi que le volume courant ont été mesurés avant, pendant et après l'exposition.

Une augmentation de la fréquence respiratoire, ainsi qu'une diminution VEMS et VIMS ont été observées chez les individus exposés à 5 mg/m<sup>3</sup> (1,2 ppm) d'acide sulfurique mais également à 0,35 mg/m<sup>3</sup> (0,08 ppm). Une diminution du volume courant a été également observée chez 5 sujets exposés à 0,4 mg/m<sup>3</sup> (0,1 ppm) 2 minutes après l'exposition. Une toux est notée chez les individus pour une concentration de 5 mg/m<sup>3</sup> (1,2 ppm).

#### ◆ Sim et Pattle (1957)

Des volontaires sains ont été exposés à de l'acide sulfurique sec en chambre d'exposition (entre 2,9 et 39 mg/m<sup>3</sup> soit entre 0,7 et 9,5 ppm) ou par masque (entre 4,1 et 39 mg/m<sup>3</sup> soit entre 1 et 9,5 ppm), ou à de l'acide sulfurique humide en chambre d'exposition (entre 11,5 et 38 mg/m<sup>3</sup> soit entre 2,8 et 9,3 ppm). L'exposition dure respectivement 60, 10 et entre 30 et 60 minutes et est répétée

316, 183 et 40 fois. Pendant l'exposition les individus peuvent bouger et fumer s'ils le veulent.

L'acide sulfurique sec induit une toux et une bronchoconstriction chez certains individus dès la concentration la plus faible. Pour une même concentration, l'acide sulfurique humide est plus irritant que l'acide sulfurique sec. Certains symptômes apparaissent dès 10 minutes d'exposition.

#### ◆ **Sackner *et al.* (1978)**

Cette étude évalue l'effet de l'acide sulfurique sur le système cardio-respiratoire chez les chiens, les moutons et chez l'homme (volontaires sains et asthmatiques). Seule, l'étude chez les volontaires sains sera rapportée ici. Dans une première série d'expérience, 5 volontaires sains (3 hommes et 2 femmes) dont la moyenne d'âge est de  $29 \pm 3$  ans ont été exposés à  $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$  de chlorure de sodium pendant 10 minutes. Cinq autres volontaires (5 femmes) dont la moyenne d'âge est de  $25 \pm 4$  ans ont été exposés à  $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$  ( $2,4 \cdot 10^{-3}$  ppm) d'acide sulfurique pendant 10 minutes.

Les fonctions ventilatoires ont été mesurées immédiatement après l'exposition puis 30 et 60 minutes après la fin des expositions. Les sujets ont été ensuite exposés pendant 10 minutes à  $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$  de chlorure de sodium ou à  $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$  ( $2,4 \cdot 10^{-2}$  ppm) d'acide sulfurique, puis pendant 10 minutes à des concentrations de  $1000 \mu\text{g}/\text{m}^3$  de chlorure de sodium ou d'acide sulfurique. Entre chaque exposition, les fonctions ventilatoires ont été mesurées.

Dans la seconde série d'expériences, 6 volontaires sains (4 hommes et 2 femmes) dont la moyenne d'âge est de  $30 \pm 2$  ans ont été exposés à  $1000 \mu\text{g}/\text{m}^3$  de chlorure de sodium pendant 10 minutes et 6 femmes dont la moyenne d'âge est de  $30 \pm 6$  ans ont été exposées à  $1000 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (0,24 ppm) d'acide sulfurique pendant 10 minutes. Les fonctions cardiaques et pulmonaires ont été mesurées avant les expositions et plusieurs heures après la fin de ces expositions.

Dans la troisième série d'expériences, 6 volontaires sains (3 hommes et 3 femmes) dont la moyenne d'âge est de  $24 \pm 2$  ans ont été exposés pendant 10 minutes à  $1000 \mu\text{g}/\text{m}^3$  de chlorure de sodium. Six autres volontaires ont été exposés pendant 10 minutes à  $1000 \mu\text{g}/\text{m}^3$  d'acide sulfurique. Dans les 2 cas, l'hémodynamique est mesurée après l'exposition.

Cette étude a mis en évidence qu'une exposition aiguë à de l'acide sulfurique ne provoque pas d'altération immédiate ou retardée des fonctions cardiaques et pulmonaires chez l'homme après une exposition de 10 minutes à des concentrations allant jusqu'à  $1 \text{mg}/\text{m}^3$  (0,24 ppm).

#### ◆ **Newhouse *et al.* (1978)**

Dix volontaires sains non-fumeurs ont été exposés à de l'albumine saline sous forme d'aérosol. Cette albumine est radiomarquée. Après une demi-heure de repos, ces individus ont été exposés à  $1 \text{mg}/\text{m}^3$  (0,245 ppm) d'acide sulfurique sous forme d'aérosol (particules de taille de  $0,5 \mu\text{m}$ ) pendant 30 minutes avec des périodes de 4 minutes d'exercice. Les fonctions pulmonaires ainsi que la clairance

mucociliaire ont été mesurées 2 heures après le début de l'exposition à l'acide sulfurique.

La clairance mucociliaire est plus rapide après une exposition à l'acide sulfurique. De plus, une légère diminution de 1,4 % du volume maximal d'air expiré a été constatée après une exposition à l'acide sulfurique.

◆ **Avol et al. (1979)**

Douze volontaires (6 sains et 6 asthmatiques) ont été exposés dans des chambres d'inhalation à  $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (0,024 ppm) sous forme d'aérosol (particules de  $0,3 \mu\text{m}$ ) pendant 2 heures en conditions contrôlées. Les fonctions pulmonaires des individus ont été mesurées à l'entrée et à la sortie de la chambre d'inhalation.

Aucun changement significatif des fonctions respiratoires n'a été observé chez les volontaires sains et asthmatiques.

◆ **Chaney et al. (1980)**

Dix huit volontaires sains ont été exposés pendant 4 heures à  $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$  ( $2,4 \cdot 10^{-2}$  ppm) d'acide sulfurique sous forme d'un aérosol (particules de  $0,5 \mu\text{m}$ ). Certains paramètres biochimiques sanguins (glutathion, lysozyme, glutathion réductase, vitamine E sérique et acide 2,3-diphosphoglycérique) ont été mesurés avant et après l'exposition.

Aucune modification de ces paramètres n'a été constatée après l'exposition à l'acide sulfurique.

◆ **Leikauf et al. (1981)**

Dix volontaires sains non-fumeurs dont la moyenne d'âge est  $28 \pm 7$  ans ont été exposés par un masque à 110, 330 et  $980 \mu\text{g}/\text{m}^3$  ( $2,7 \cdot 10^{-2}$ ,  $8 \cdot 10^{-2}$  et 0,24 ppm) d'acide sulfurique sous forme d'aérosol (particules de  $0,5 \mu\text{m}$ ) pendant 1 heure.

Les individus ont été exposés à du  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  radiomarqué, également sous forme d'aérosol (particules de  $7,4 \mu\text{m}$ ), dix minutes avant l'exposition à l'acide sulfurique. Les fonctions ventilatoires des individus ont été évaluées avant l'exposition, puis 30 minutes, 2 heures et 4 heures après l'exposition. Le transfert particulaire dans la trachée ainsi que la clairance mucociliaire de la trachée et des bronches ont été également étudiés.

Après l'exposition à l'acide sulfurique, la clairance mucociliaire bronchique des particules de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  est altérée (augmentation ou diminution de cette clairance en fonction des individus) chez neuf individus sur les dix exposés quelle que soit la concentration d'exposition. Cet effet est transitoire et n'est pas accompagné de modification du transfert particulaire dans la trachée ni de modification de la fonction ventilatoire.



◆ **Horvath et al. (1982)**

Onze hommes adultes ont été exposés à 233, 418 et 939  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  ( $5,7 \cdot 10^{-2}$ , 0,1 et 0,23 ppm) d'acide sulfurique sous forme d'aérosol (particules de 0,9  $\mu\text{m}$ ) pendant 2 heures.

Les résultats n'ont pas mis en évidence de modifications significatives des paramètres des fonctions pulmonaires mesurés (respiration forcée, volumes pulmonaires et résistance des voies aériennes).

◆ **Stacy et al. (1983)**

Deux cent trente et un volontaires sains ont été exposés à différents polluants dont l'acide sulfurique et à des mélanges de polluants. Dix personnes ont été uniquement exposées à de l'air et 11 à 100  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  ( $2,4 \cdot 10^{-2}$  ppm) d'acide sulfurique. L'exposition à l'acide sulfurique est de 4 heures pendant lesquelles deux séances de 15 minutes d'exercice ont été effectuées par les individus.

Une batterie de tests mesurant les fonctions pulmonaires a été menée chez les individus juste avant l'exposition, 2 heures après le début de l'exposition, pendant la première session d'exercice, 4 heures après le début de l'exposition, pendant la deuxième session d'exercice et 24 heures après l'exposition.

Aucun des paramètres mesurés n'a été modifié pendant et après une exposition à 100  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  ( $2,4 \cdot 10^{-2}$  ppm) d'acide sulfurique.

◆ **Leikauf et al. (1984)**

Afin de connaître l'effet d'un aérosol d'acide sulfurique (particules de 0,5  $\mu\text{m}$ ) sur la clairance des voies respiratoires, huit volontaires sains non-fumeurs ont été exposés, par masque, à un aérosol de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  radiomarqué (particules de 4,2  $\mu\text{m}$ ) puis à de l'acide sulfurique. L'exposition à l'acide sulfurique est réalisée pendant 4 jours distincts répartis sur une semaine. Dans une journée, l'exposition à l'acide sulfurique (100, 300 et 1000  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) ( $2,4 \cdot 10^{-2}$ ,  $7,3 \cdot 10^{-2}$  et 0,245 ppm) est faite pendant une heure divisée en 3 fois 20 minutes. Les fonctions ventilatoires sont mesurées avant l'exposition à l'acide sulfurique, puis 10 minutes et 4 heures après l'arrêt de l'exposition. L'exposition au  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  est réalisée juste après la première mesure et avant la première exposition à l'acide sulfurique. La rétention thoracique des particules de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  radiomarquées est contrôlée 6 heures et 24 heures après l'exposition au  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  afin de déterminer le taux de clairance mucociliaire.

Les fonctions mécaniques du système respiratoire et le taux de transport mucociliaire dans la trachée ne sont pas significativement modifiés chez les personnes exposées à l'acide sulfurique et ceci quelle que soit la concentration. Par contre, la clairance mucociliaire bronchique est plus lente après une heure d'exposition à l'acide sulfurique quelle que soit la concentration (100, 300 et 1000  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ).

◆ **Utell et al. (1984)**

Des volontaires sains et asthmatiques ont été exposés à 3 substances sulfatées dont l'acide sulfurique. Le but de cette étude est de savoir si le sulfate sous forme

d'aérosol est capable d'augmenter la réponse à un bronchoconstricteur connu, le carbacol, chez les individus sains et chez les individus asthmatiques. L'exposition à 100 ( $2,4 \cdot 10^{-2}$  ppm) et à 1000  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (0,24 ppm) d'acide sulfurique est réalisée pendant 16 minutes.

Les résultats ne sont donnés ici que pour les volontaires sains. La première exposition à 1000  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  d'acide sulfurique potentialise l'action du carbacol sur la conductance des voies aériennes par rapport au contrôle chlorure de sodium et par rapport au carbacol seul. Aucun effet n'a été observé à la concentration de 100  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ .

#### ◆ **Avol et al. (1988)**

Vingt et un volontaires sains et 21 volontaires asthmatiques dont l'âge varie entre 18 et 45 ans ont été exposés à de l'acide sulfurique sous forme d'aérosol (particules de 0,9  $\mu\text{m}$ ). Les individus ont été exposés à différentes concentrations d'acide sulfurique (380, 1060 et 1520  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) ( $9,3 \cdot 10^{-2}$ , 0,26, 0,37 ppm) pendant 1 heure avec trois périodes de 10 minutes d'exercice et une pause.

Les fonctions pulmonaires ont été mesurées avant l'exposition, pendant l'exposition juste après la première série d'exercice et pendant l'exposition lors de la dernière pause.

Un questionnaire concernant les symptômes ressentis par les individus a dû être rempli à la fin de chaque exercice et pendant la pause. Après l'exposition, les individus sont exposés à de l'air pur pendant une heure et la réactivité des voies aériennes est testée après inhalation de chlorure de méthacholine sous forme d'aérosol.

Chez les volontaires sains, aucun changement de la fonction pulmonaire, de la réactivité des voies aériennes après une inhalation de chlorure de méthacholine attribué à l'exposition à l'acide sulfurique n'a été noté. De même, aucun symptôme de type irritant de l'acide sulfurique n'a été constaté.

#### ◆ **Linn et al. (1989)**

Vingt-deux volontaires sains et 19 asthmatiques (homme et femmes) âgés de 18 à 45 ans ont été exposés à 3 aérosols d'acide sulfurique d'une concentration nominale de 2  $\text{mg}/\text{m}^3$  (0,49 ppm) : taille des particules de 20, 10 et 1  $\mu\text{m}$ . La durée de l'exposition est de 1 heure et comprend 3 périodes d'exercice de 10 minutes chacune.

Aucune modification des fonctions pulmonaires et de la réactivité bronchique induite par la métacholine n'a été mise en évidence chez les individus sains. Par opposition, les volontaires asthmatiques présentent une diminution de leur capacité expiratoire forcée ainsi qu'une augmentation de la résistance des voies aériennes et des symptômes d'irritation respiratoire. Le changement des fonctions pulmonaires chez les asthmatiques semble dépendant du temps d'exposition mais indépendant de la taille des particules acides.

◆ **Spektor et al. (1989)**

Afin de déterminer si le temps d'exposition à l'acide sulfurique a une influence sur la clairance mucociliaire, des particules de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> de 5,2 µm ont été inhalées avant et après l'exposition à l'acide sulfurique.

Dix volontaires sains non-fumeurs ont ensuite été exposés à différentes concentrations (100 et 1000 µg/m<sup>3</sup>) (2,4.10<sup>-2</sup> et 0,24 ppm) d'acide sulfurique pendant 1 et 2 heures. Les fonctions respiratoires ont été mesurées (avant l'exposition, 15 minutes et 3 heures après l'exposition) ainsi que la clairance mucociliaire bronchique.

La clairance mucociliaire est altérée après l'inhalation d'acide sulfurique et ceci pour les deux concentrations (100 et 1000 µg/m<sup>3</sup>). L'effet de l'acide sulfurique sur la clairance mucociliaire est plus important lorsque les particules de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sont inhalées après l'exposition à l'acide sulfurique. Enfin l'altération de la clairance mucociliaire est dépendante du temps d'exposition à l'acide sulfurique.

◆ **Frampton et al. (1992)**

Douze volontaires sains non-fumeurs dont l'âge est compris entre 20 et 39 ans ont été exposés pendant 2 heures à 1000 µg/m<sup>3</sup> (0,24 ppm) d'acide sulfurique. Les 2 expositions sont séparées de 2 semaines. Pendant l'exposition, les individus ont effectué des exercices d'effort moyen. Un lavage bronchoalvéolaire a été effectué 18 heures après l'exposition afin de détecter une possible réponse inflammatoire ou des changements concernant les cellules alvéolaires ou/et les fonctions des macrophages alvéolaires.

L'exposition à l'acide sulfurique n'augmente pas le nombre de leucocytes polynucléaires présents dans le liquide bronchoalvéolaire. Le pourcentage de lymphocytes T est diminué, mais cette diminution n'est pas significative. Enfin, aucun changement significatif n'a été détecté concernant la sécrétion de radicaux oxygénés ou l'inactivation du virus influenza *in vitro*. Cette étude a donc mis en évidence que l'exposition brève (2 heures) à 1000 µg/m<sup>3</sup> d'acide sulfurique n'induit pas d'influx de cellules inflammatoires au niveau des alvéoles et aucune preuve d'altération de la défense antimicrobienne n'a été détectée, 18 heures après l'exposition.

◆ **Koenig et al. (1993)**

Huit volontaires sains et 9 volontaires asthmatiques dont l'âge est compris entre 60 et 75 ans ont été exposés à 70 µg/m<sup>3</sup> (1,2.10<sup>-2</sup> ppm) d'acide sulfurique pendant des périodes de 40 minutes découpées en 30 minutes de repos et en 10 minutes d'exercice de faible effort (vélo).

Les paramètres ventilatoires ont été mesurés avant et après l'exposition et aucune altération chez les volontaires sains n'a été détectée. L'âge des individus ne semble pas influencer la réponse à l'acide sulfurique.

◆ **Culp et al. (1995)**

Douze volontaires sains non-fumeurs (20-39 ans) ont été exposés pendant 2 heures à 1000 µg/m<sup>3</sup> d'acide sulfurique sous forme d'aérosol. Des lavages bronchiques ont été effectués chez ces individus, 18 heures après la fin de l'exposition.

Ces lavages ont été ensuite analysés afin de savoir si l'altération de la clairance mucociliaire observée après une exposition d'acide sulfurique est accompagnée d'une modification de la composition des sécrétions bronchiques. De plus, un questionnaire a été rempli par les individus à la fin de l'exposition à l'acide sulfurique et 18 heures après la fin de cette exposition.

Aucune modification de la composition des sécrétions bronchiques n'a été constatée chez les individus après l'exposition à l'acide sulfurique. Cependant, durant l'exposition, 3 individus ont présenté une toux, une irritation de la gorge ou ont détecté une odeur.

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

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

Seule une étude, celle de Vemot *et al.*, 1977 a établi une CL<sub>50</sub> pour le trioxyde de soufre. Aucune autre donnée n'est disponible concernant les effets létaux du trioxyde de soufre chez l'animal. Par contre, plusieurs études traitent de la mortalité des animaux après une exposition aiguë à l'acide sulfurique. Ces études sont décrites ci-dessous et le détail des conditions expérimentales est donné en annexe (cf. §10., Tableau 1). La cotation des études selon les critères de classification de Klimish est reportée à la suite de la référence bibliographique pour toutes les études menées chez l'animal (cotation "x").

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

La plupart des études de détermination de la toxicité aiguë (DL<sub>50</sub>, CL<sub>50</sub>) par inhalation sont effectuées chez les rongeurs et principalement chez le cobaye. Les principaux résultats recueillis sont reportés ci-après :

##### **◆ Treon *et al.* (1950) - cotation 2**

Dans cette étude, des rats, des souris, des cobayes et des lapins ont été exposés à différentes concentrations d'acide sulfurique (aérosol dont la taille des particules est dans 93 à 99 % des cas inférieure à 2 µm) comprises entre 22,1 et 410 ppm (90,2 et 1672,8 mg/m<sup>3</sup>) pendant des temps variables (entre 0,25 heure et 7 heures par jour pendant 4 jours).

Dans cette étude, les auteurs ont montré que le cobaye est l'espèce la plus sensible à l'acide sulfurique et que la souris est plus sensible que le rat. Le détail des résultats est rapporté dans l'annexe (cf. §9., Tableau 1).

##### **◆ Amdur *et al.* (1952b) - cotation 2-3**

Des cobayes ont été exposés à différentes concentrations d'acide sulfurique sous forme d'aérosol (la taille moyenne des particules est de 1 µm) pendant 8 et 72 heures. Deux lots de cobayes ont été exposés, des jeunes âgés de 1 à 2 mois et des adultes de un an et demi. Les données individuelles sont présentées sur un graphe. Le pourcentage de mortalité et les concentrations d'acide sulfurique auxquelles sont exposés les cobayes sont uniquement indiquées dans le graphe. Pour cette raison, il est difficile de donner précisément les concentrations d'exposition et le pourcentage de mortalité des cobayes.

Les jeunes cobayes sont plus sensibles à l'acide sulfurique que les adultes. Le temps d'exposition à l'acide sulfurique ne semble pas avoir d'effet majeur sur la létalité des cobayes. L'acide sulfurique induit chez les cobayes un spasme laryngé, principalement responsable de la mort, et une altération pulmonaire (hémorragie, congestion importante des bronches, des alvéoles et des vaisseaux sanguins).

Pendant une exposition de 72 heures à 12 mg/m<sup>3</sup> (2,6 ppm) d'acide sulfurique, approximativement 10 % des cobayes meurent, alors qu'à la concentration de 8 mg/m<sup>3</sup> (1,9 ppm) tous les cobayes survivent. Les CL<sub>50</sub> et CL<sub>0</sub> suivantes ont été calculées :

- Cobaye de 1 à 2 mois

8 heures	CL <sub>50</sub> = 18 mg/m <sup>3</sup> (4,4 ppm)
8 heures	CL <sub>0</sub> = 8 mg/m <sup>3</sup> (1,9 ppm)
- Cobaye de 1 an et demi

8 heures	CL <sub>50</sub> = 50 mg/m <sup>3</sup> (12,2 ppm)
8 heures	CL <sub>0</sub> = 20 mg/m <sup>3</sup> (4,9 ppm)

◆ **Pattle et al. (1956) - cotation 2-3**

Des cobayes ont été exposés en corps entier à un aérosol d'acide sulfurique. Le premier effet néfaste observable est une dyspnée survenue chez certains cobayes, 3 heures après le début de l'exposition. Puis il apparaît une cyanose, la respiration de l'animal se ralentit et il perd conscience. L'animal meurt, environ 8 heures après le début de l'exposition. La prolongation de l'exposition pendant 96 heures à la même concentration d'acide sulfurique n'augmente pas le taux de mortalité ni le pourcentage de cobayes souffrant de dyspnée. Dans cette étude, il est également montré que la toxicité de l'acide sulfurique varie en fonction de la taille des particules de l'aérosol et qu'une température de 0°C augmente la toxicité de l'acide sulfurique. Les données individuelles ne sont pas disponibles. Par contre, les CL<sub>50</sub>, CL<sub>5</sub> et CL<sub>95</sub> suivantes ont été calculées à partir des résultats obtenus chez 12 cobayes.

- Cobaye (aérosol d'acide sulfurique dont la taille des particules est de 2,7 µm)

8 heures	CL <sub>05</sub> = 4,8 ppm
8 heures	CL <sub>50</sub> = 6,8 ppm
8 heures	CL <sub>95</sub> = 9,5 ppm
- Cobaye (aérosol d'acide sulfurique dont la taille des particules est de 0,8 µm)

8 heures	CL <sub>05</sub> = 8,4 ppm
8 heures	CL <sub>50</sub> = 14,9 ppm
8 heures	CL <sub>95</sub> = 26,6 ppm

◆ **Vemot et al. (1977) - cotation 3**

L'article n'est pas disponible. Les CL<sub>50</sub> calculées dans cette étude ont été rapportées dans l'ATSDR de 1998.

Dans l'ATSDR, il est indiqué qu'une CL<sub>50</sub> de 347 ppm chez le rat femelle et une CL<sub>50</sub> de 420 ppm chez le rat mâle ont été rapportées dans la publication de Vemot pour une exposition de 1 heure à l'acide sulfurique fumant. Dans l'étude de Vemot le pourcentage de trioxyde de soufre dans l'acide sulfurique fumant n'est pas indiqué mais généralement l'acide sulfurique fumant est composé de plus de 80 % de trioxyde de soufre libre. Les CL<sub>50</sub> alors exprimées en mg de trioxyde de soufre par m<sup>3</sup> d'air sont de 1136 chez les rats femelles et de 1375 chez les rats mâles.

- Rat femelle (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)      1 heure      CL<sub>50</sub> = 347 ppm
- Rat mâle (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)      1 heure      CL<sub>50</sub> = 420 ppm
  
- Rat femelle (SO<sub>3</sub>)      1 heure      CL<sub>50</sub> = 1136 mg/m<sup>3</sup> (3658 ppm)
- Rat mâle (SO<sub>3</sub>)      1 heure      CL<sub>50</sub> = 1375 mg/m<sup>3</sup> (4427 ppm)

◆ **Runckle and Hahn (1976) – cotation 1-2**

Expérience 1 : Des souris CD-1 sont exposées en corps entier à des aérosols d'acide sulfurique de 270, 550, 730 et 1040 mg/m<sup>3</sup> (66, 135, 179 et 255 ppm) pendant 1, 2, 4 et 8 heures.

Expérience 2 : Des rats Fischer-344 sont exposés en corps entier à des aérosols d'acide sulfurique de 240, 470, 730, 800, 1080 et 1090 mg/m<sup>3</sup> (59, 115, 179, 196, 265 et 267 ppm) pendant 1, 2, 4 et 8 heures.

Dans les deux expériences, la mortalité des animaux est suivie régulièrement jusqu'à 21 jours après le début de l'exposition. Les données individuelles de mortalité sont présentées en annexe (§10. tableau 1).

◆ **Cavender et al. (1977) - cotation 2**

Des rats mâles (20/lot) et des cobayes femelles (20/lot) ont été exposés pendant 2 et 7 jours à 5 et à 10 mg/m<sup>3</sup> (1,2 et 2,4 ppm) d'acide sulfurique sous forme d'aérosol (particules entre 0,81 et 0,98 µm) ou pendant 5 jours à 10, 30 et à 100 mg/m<sup>3</sup> (1,2, 7,3 et 24,5 ppm) d'acide sulfurique (particules entre 0,72 et 0,89 µm). Les animaux ont été également exposés à des concentrations d'acide sulfurique identiques (20 mg/m<sup>3</sup>, 4,9 ppm) mais dont la taille des particules diffère (1,66, 0,99 et 0,53 µm). Les animaux ont été observés tous les jours pendant l'exposition, les signes cliniques anormaux ainsi que la mortalité des rats et des cobayes ont été notés. Cinq animaux de chaque groupe ont été sacrifiés, le poids du corps, du foie et du cerveau a été mesuré et des examens histopathologiques des tissus de différents organes (cerveau, cavité nasale, trachée, poumons, foie, cœur, reins et rate) ont été réalisés.

Dans ce chapitre, seuls les effets létaux seront décrits. Le détail des résultats n'est pas rapporté dans l'étude.

Les résultats montrent que l'acide sulfurique n'induit pas la mort chez le rat quelle que soit la concentration (5, 10, 20, 30 et 100 mg/m<sup>3</sup> soit 1,2, 2,4, 7,3, 24,5 ppm) et le temps d'exposition 2, 5 et 7 jours.

Chez le cobaye, l'acide sulfurique n'est pas létal pour des concentrations allant jusqu'à 20 mg/m<sup>3</sup>. Par contre, tous les cobayes exposés à 30 mg/m<sup>3</sup> d'acide sulfurique meurent pendant les 7 jours d'exposition. A 100 mg/m<sup>3</sup>, l'acide sulfurique induit la mort de tous les cobayes, 2 heures après le début de l'exposition par une atteinte pulmonaire aigüe (œdème, congestion, hémorragies).

#### ◆ Izmerov *et al.* (1982) - cotation 3

L'étude complète est en Russe. Un résumé de cette étude a permis de savoir qu'une CL<sub>50</sub> pour 2 heures d'exposition à l'acide sulfurique a été calculée chez la souris et le rat. Les CL<sub>50</sub> sont les suivantes :

- Rat                      2 heures      CL<sub>50</sub> = 510 ppm
- Souris                    2 heures      CL<sub>50</sub> = 320 ppm
- Cobaye (Aérosol d'acide sulfurique dont la taille des particules est de 0,8 µm et la température d'exposition est près de zéro)
  - 8 heures      CL<sub>5</sub> = 7,6 ppm
  - 8 heures      CL<sub>50</sub> = 11,7 ppm
  - 8 heures      CL<sub>95</sub> = 17,8 ppm

#### ◆ Wolff *et al.* (1979) - cotation 2

Des cobayes âgés de 2 à 3 mois (8/sexe/lot) ont été exposés pendant 8 heures à des aérosols de différentes concentrations d'acide sulfurique. Deux types d'aérosol ont été utilisés, un aérosol dont la taille des particules est de 0,8 µm et un aérosol dont la taille des particules est de 0,4 µm. Les données individuelles de mortalité sont reportées dans le tableau en Annexe (§10 B). La mortalité est observée pendant l'exposition et jusqu'à 21 jours après celle-ci.

Cette étude met en évidence que les aérosols d'acide sulfurique dont la taille moyenne des particules est de 0,8 µm sont plus toxiques que les aérosols dont la taille des particules est de 0,4 µm. Les lésions observées chez les cobayes exposés à un aérosol de 0,4 µm sont uniquement des hyper-inflammations. Alors que les cobayes exposés à un aérosol de 0,8 µm présentent en plus d'une hyper-inflammation une hémorragie pulmonaire. Pour les particules de 0,4 µm, la CL<sub>50</sub> est supérieure à 109 mg/m<sup>3</sup> (26,7 ppm) mais elle n'a pas pu être calculée. Par contre, une CL<sub>50</sub> a été calculée chez le cobaye pour une exposition de 8 heures à l'acide sulfurique dont la taille des particules est de 0,8 µm. Cette CL<sub>50</sub> est la suivante :

- Cobaye (Aérosol de 0,8 µm)                      8 heures      CL<sub>50</sub> = 30,3 mg/m<sup>3</sup>  
(7,7 ppm)



#### ♦ **Silbaugh et al. (1982) - cotation 2**

Des cobayes ont été exposés entre 1 et 8 heures à des concentrations et à des tailles de particules variées d'acide sulfurique. Les effets de l'acide sulfurique sur la mortalité des cobayes, la fonction et la morphologie du système respiratoire ainsi que la réponse bronchoconstrictrice des voies aériennes ont été étudiés.

Seuls les effets létaux seront reportés ici.

Des cobayes (16/lot) ont été exposés pendant 8 heures en corps entier. Pour l'acide sulfurique dont la taille des particules est de 0,8 µm, les concentrations sont comprises entre 21,1 et 42,7 mg/m<sup>3</sup> (5,2 et 10,4 ppm) et lorsque la taille des particules est de 0,4 µm, les concentrations sont comprises entre 42,8 et 109,2 mg/m<sup>3</sup> (10,5 et 26,7 ppm). Les données individuelles sont uniquement présentées dans un graphe et ne sont pas précises. La CL<sub>50</sub> calculée dans cette étude est la suivante :

- Cobaye (taille : 0,8 µm)                      8 heures                      CL<sub>50</sub> = 30 mg/m<sup>3</sup> (7,3 ppm)

Un aérosol contenant 109 mg/m<sup>3</sup> (26,7 ppm) d'acide sulfurique (particules de 0,4 µm) induit moins de 50 % de mort. Les particules les plus larges induisent donc une mortalité plus importante que les particules plus fines. Dans les 2 cas, les animaux souffrent d'une dyspnée sévère et la cause de la mort est une constriction sévère des voies aériennes. La différence observée entre les 2 tailles de particules s'explique par le fait que les particules se déposent dans des sites différents. Les particules de 0,8 µm s'accumulent au niveau des voies aériennes supérieures ce qui déclenche facilement une constriction des voies aériennes. Les particules de 0,4 µm se déposent dans des zones plus profondes (alvéoles).

#### ♦ **Stengel et al. (1993) - cotation 1**

Dans cette étude des cobayes males (4 à 6/lot) ont été exposés pendant 1 heure à des concentrations variées d'acide sulfurique (de 52 à 61 mg/m<sup>3</sup> – de 12,7 à 14,9 ppm). La taille des particules de l'aérosol est comprise entre 0,8 et 2,1 µm. Pendant l'exposition, les cobayes ont présenté une dyspnée et 6 % d'entre eux meurent pendant l'exposition.

### **5.1.2 CHEZ LE LAPIN**

#### ♦ **Treon et al. 1950 - cotation 2**

Dans cette étude, des rats, des souris, des cobayes et des lapins ont été exposés à différentes concentrations d'acide sulfurique (aérosol dont la taille des particules est dans 93 à 99 % des cas inférieure à 2 µm) comprises entre 22,1 et 410 ppm (90,2 et 1672,8 mg/m<sup>3</sup>) pendant des temps variables (entre 0,25 heure et 7 heures par jour pendant 4 jours).

Le lapin semble l'espèce la moins sensible à l'acide sulfurique et des fortes concentrations en acide sulfurique sont nécessaires pour induire la mort. Les

données individuelles de mortalité sont rapportées dans l'annexe (cf. §9., Tableau 1).

### **5.1.3 CHEZ LE CHIEN**

Aucune donnée de létalité n'est disponible chez le chien.

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

Aucune donnée de létalité n'est disponible chez les primates non humains.

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

### **5.2.1 CHEZ LES RONGEURS : RAT, COBAYE ET FURET**

#### **◆ Cavender *et al.* (1977) - cotation 2**

Cette étude a été décrite dans le chapitre précédent. Cinq animaux de chaque lot ont été sacrifiés. Le poids corporel, du foie et du cerveau a été mesuré et des examens histopathologiques des tissus de différents organes (cerveau, cavité nasale, trachée, poumons, foie, cœur, reins et rate) ont été réalisés.

Chez le rat, aucune altération des organes n'a été observée quelle que soit la concentration (5, 10, 20, 30 et 100 mg/m<sup>3</sup>) en acide sulfurique et le temps d'exposition 2, 5 et 7 jours.

Chez le cobaye, outre les effets létaux décrits dans le chapitre précédent, il a été montré que l'exposition à 20 mg/m<sup>3</sup> d'acide sulfurique induit des lésions pulmonaires hémorragiques. Aux concentrations de 5 et 10 mg/m<sup>3</sup> aucune altération n'a été notée.

L'acide sulfurique n'a pas d'effet sur le poids corporel des rats et des cobayes ni sur le poids relatif des poumons des 2 espèces quelle que soit la concentration et le temps d'exposition.

#### **◆ Amdur (1958) - cotation 2**

Des cobayes ont été exposés pendant 1 heure à différentes tailles de particules d'acide sulfurique, 0,8, 2,5 et 7 µm. Pour chaque type de particule, les concentrations sont comprises entre 1,9 et 43 mg/m<sup>3</sup> (0,4 et 10,5 ppm). Le nombre d'animaux testés varie entre 6 et 11. Dans cette étude, les animaux sont d'abord exposés à de l'air puis à l'acide sulfurique. Ainsi, chaque animal est son propre contrôle. Les fonctions respiratoires (résistance, compliance, volume courant, fréquence respiratoire et volume par minute) ont été mesurées lors de l'exposition à l'air, toutes les 5 minutes pendant 30 minutes. L'acide sulfurique est ensuite mélangé à l'air et les mesures reprennent toutes les 5 minutes pendant 1 heure. Après l'exposition, le poids relatif des poumons a été déterminé.

Les particules de 7  $\mu\text{m}$  induisent seulement une augmentation légère mais significative de la résistance des voies aériennes à la concentration de 30  $\text{mg}/\text{m}^3$  (7,3 ppm), seule concentration testée, en raison d'un dépôt particulaire dans les voies respiratoires supérieures.

Les particules de 2,5  $\mu\text{m}$  n'induisent pas de changement du volume courant. Par contre, une augmentation de la résistance pulmonaire est observée quelle que soit la concentration. Cette augmentation est proportionnelle à la concentration d'acide sulfurique inhalé et s'accompagne d'une diminution de la compliance. Une diminution de la fréquence respiratoire et une augmentation du poids relatif des poumons ont été constatées pour la concentration la plus élevée (40  $\text{mg}/\text{m}^3$  soit 9,8 ppm).

Les particules de 0,8  $\mu\text{m}$  induisent les mêmes effets que celles de 2,5  $\mu\text{m}$ . Cependant, en ce qui concerne la résistance pulmonaire, les particules de 2,5  $\mu\text{m}$  ont un effet plus important que celles de 0,8  $\mu\text{m}$  pour des concentrations élevées (15, 26 et 43  $\text{mg}/\text{m}^3$ , soit respectivement 3,6, 6,3 et 10,5 ppm). Aux faibles concentrations (1,9, 5, 9  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , soit respectivement 0,4, 1,2 et 2,2 ppm) cette tendance est inversée.

#### ◆ **Amdur (1959) - cotation 1**

Des cobayes ont été exposés pendant 1 heure à une concentration identique de 4 substances irritantes différentes dont l'acide sulfurique. La concentration est de 15,4  $\text{mg}/\text{m}^3$  (3,6 ppm) pour l'acide sulfurique. Les animaux reçoivent 2 types d'aérosols d'acide sulfurique, un aérosol dont la taille des particules est de 2,5  $\mu\text{m}$  (6/lot) et un dont la taille des particules est de 0,8  $\mu\text{m}$  (10/lot). Dans cette étude, les fonctions respiratoires (résistance pulmonaire, compliance et volume courant) ont été mesurées toutes les 5 minutes pendant 30 minutes lors de l'exposition des cobayes à de l'air. L'acide sulfurique est ensuite additionné à l'air et les mesures reprennent toutes les 5 minutes pendant l'heure d'exposition.

L'acide sulfurique, quel que soit le type d'aérosol, induit une augmentation de la résistance pulmonaire et une diminution de la compliance.

Cette étude a mis en évidence des mécanismes d'action de l'acide sulfurique différents en fonction de la taille des particules de l'aérosol. Le produit entre la résistance et de la compliance est la constante de temps du poumon. Lors de l'exposition à l'acide sulfurique dont la taille des particules est de 0,8  $\mu\text{m}$ , la diminution de la compliance est faible, la constante de temps du poumon est donc élevée ce qui signifie que l'aérosol a induit une constriction des bronches chez les cobayes. Lorsque la taille des particules de l'aérosol est de 2,5  $\mu\text{m}$ , la diminution de la compliance est importante, la constante de temps est donc faible ce qui reflète que cet aérosol a induit une obstruction partielle des bronches et non une constriction. Des données dans la littérature suggèrent que les particules de taille de 2,5  $\mu\text{m}$  se déposent majoritairement au niveau des bronches alors que les particules de 0,8  $\mu\text{m}$  s'accumulent dans la partie la plus distale du poumon. Ce qui expliquerait la différence d'action entre ces 2 types de particules.

◆ **Amdur et al. (1978) - cotation 1. Cette étude nous est apparue très pertinente.**

Afin de connaître jusqu'à quelle concentration, l'acide sulfurique a un pouvoir irritant, des cobayes ont été exposés pendant 1 heure à 2 types d'aérosols d'acide sulfurique différents, un dont la taille des particules est de 1 µm et un dont la taille des particules est de 0,3 µm. Les concentrations d'acide sulfurique sont de 0,11, 0,4, 0,69 et 0,85 mg/m<sup>3</sup> ( $2,6 \cdot 10^{-2}$ ,  $9,8 \cdot 10^{-2}$ , 0,17 et 0,2 ppm) pour l'aérosol de 1 µm et de 0,1, 0,51 et 1 mg/m<sup>3</sup> ( $2,4 \cdot 10^{-2}$ , 0,1 et 0,24 ppm) pour l'aérosol de 0,3 µm.

Les fonctions ventilatoires (résistance pulmonaire, compliance et volume courant) du système respiratoire ont été ensuite mesurées. Comme dans les autres études de Amdur, cette mesure est effectuée toutes les 5 minutes pendant 30 minutes lors de l'exposition des cobayes à de l'air. L'acide sulfurique est ensuite additionné à l'air et les mesures reprennent toutes les 5 minutes pendant l'heure d'exposition. Chaque animal est ainsi son propre contrôle. Enfin, les fonctions respiratoires sont mesurées après l'exposition.

Une augmentation significative de la résistance pulmonaire est observée quelles que soient la concentration et la taille des particules. Le degré de réponse est en relation avec la concentration en acide sulfurique. Aux concentrations identiques, l'augmentation de la résistance est plus importante après une exposition à l'aérosol de 0,3 µm. La valeur de la résistance pulmonaire mesurée après l'exposition est supérieure à celle mesurée avant l'exposition sauf dans le cas où les cobayes ont été exposés à des particules de 1 µm et à une concentration de 0,1 mg/m<sup>3</sup>.

Une diminution de la compliance a été également observée. Pour les particules de 1 µm, cette diminution est statistiquement significative pour les concentrations les plus élevées, 0,69 et 0,85 mg/m<sup>3</sup>. Pour les particules de 0,3 µm, une diminution de la compliance a été constatée pour toutes les concentrations d'acide sulfurique testées. Aux mêmes concentrations, la diminution de la compliance est plus importante pour les particules de 0,3 µm.

Aucune modification du volume courant et de la fréquence respiratoire n'a été observée quelle que soit la concentration et la taille des particules.

◆ **Cockrell et William (1978) - cotation 1**

Vingt cobayes (10 mâles et 10 femelles) ont été exposés à de l'acide sulfurique, dont la taille moyenne des particules est de 1 µm, pendant 2 jours à une concentration de 25 mg/m<sup>3</sup> (6,1 ppm). Cette concentration a été choisie car elle est intermédiaire entre des faibles concentrations qui n'induisent que des lésions légères du système respiratoire et des concentrations très élevées provoquant la mort des animaux. Vingt cobayes ont été également exposés à de l'air pendant 2 jours (animaux contrôles). Après les 2 jours d'exposition, les animaux ont été sacrifiés et une thoracotomie a été réalisée.

Des lésions pulmonaires ont été constatées chez les 20 cobayes exposés à l'acide sulfurique. Aucune différence n'a été notée entre les mâles et les femelles. Après un examen microscopique, il apparaît que les lésions sont aiguës et caractérisées par des œdèmes et des hémorragies focales. Ces lésions ont été observées au niveau des alvéoles et s'accompagnent d'une prolifération de

macrophages alvéolaires et des 2 types de pneumocytes. La distribution segmentée des lésions au niveau des poumons a été confirmée par la microscopie électronique à balayage. Par contre, la microscopie à transmission a mis en évidence des lésions au niveau des parties distales des voies aériennes et dans l'endothélium vasculaire. Aucune lésion n'a été constatée dans les segments les plus proximaux des voies aériennes c'est-à-dire, les bronches, la trachée et le larynx.

#### ◆ **Brownstein (1980) - cotation 1**

Vingt femelles cobayes ont été exposées pendant 4 heures à  $32,6 \text{ mg/m}^3$  (8 ppm) d'acide sulfurique (particules est de  $1 \mu\text{m}$ ). Les cobayes ont été sacrifiés juste après l'exposition et 24 heures après la fin de celle-ci et les altérations des voies aériennes ont été évaluées par microscope. Afin de savoir si la desquamation des cellules épithéliales bronchiques est dépendante ou non de la constriction des voies aériennes provoquée par l'exposition à l'acide sulfurique, 24 cobayes (12 mâles et 12 femelles) ont été exposés pendant 4 heures à la même concentration d'acide sulfurique que précédemment après avoir prétraité (administration intrapéritonéale) la moitié des animaux avec  $5 \text{ mg/kg}$  de sulfate d'atropine, substance qui inhibe la constriction des voies aériennes.

L'acide sulfurique induit une hyperinflammation diffuse des poumons avec des zones de consolidation et d'atélectasie. La desquamation des cellules épithéliales bronchiques est notée dans les voies aériennes au niveau des régions où l'atélectasie est présente et de façon plus importante dans les bronchioles terminales. Cette desquamation n'est plus observée lorsque la constriction des voies aérienne est bloquée par du sulfate d'atropine.

#### ◆ **Silbaugh *et al.* (1982) - cotation 2**

Cette étude a été décrite dans le chapitre précédent. Des cobayes ont été exposés entre 1 et 8 heures à des concentrations et à des tailles de particules variées d'acide sulfurique. Les effets de l'acide sulfurique sur la mortalité des cobayes, la fonction et la morphologie du système respiratoire ainsi que la réponse bronchioconstrictrice des voies aériennes ont été étudiés.

Seule, les effets non létaux seront reportés ici.

Quarante sept cobayes âgés de 1,5 à 3 mois ont été exposés (exposition oro-nasale) pendant 1 heure à des concentrations d'acide sulfurique variant entre  $1,2$  et  $48,3 \text{ mg/m}^3$  ( $0,3$  et  $11,8$ ). Dix cobayes ont été exposés à de l'air (animaux contrôles). Aucune altération des fonctions pulmonaires n'a été observée chez les cobayes exposés à  $1,2 - 1,3 \text{ mg/m}^3$  ( $0,29 - 0,32 \text{ ppm}$ ) d'acide sulfurique. Huit cobayes sur 27 exposés à  $14,6$ ,  $24,3$  et  $48,3 \text{ mg/m}^3$  (soit respectivement  $3,58$ ,  $5,95$  et  $11,83 \text{ ppm}$ ) ont présenté une augmentation de la résistance pulmonaire et une diminution de la compliance, associées à une dyspnée.

Vingt cobayes de 1,5 mois ont été exposés pendant 4 heures à  $32,6 \text{ mg/m}^3$  (8 ppm) d'acide sulfurique dont la taille des particules est de  $1 \mu\text{m}$ . La moitié des cobayes a été tuée à la fin de l'exposition et l'autre moitié a été tuée 24 heures après la fin de l'exposition. Un second groupe de 24 cobayes a été exposé à  $32,6 \text{ mg/m}^3$  d'acide sulfurique pendant 4 heures, la moitié a été prétraitée à l'atropine,

un agent qui bloque le système nerveux parasympathique. Les cobayes ont été sacrifiés 24 heures après la fin de l'exposition. Les cobayes du premier groupe présentent une dyspnée et une inflammation pulmonaire avec des zones de consolidations et d'atélectasie. Dans le 2<sup>ème</sup> groupe, les 12 cobayes exposés à l'acide sulfurique présentent les mêmes symptômes. Parmi les cobayes prétraités à l'atropine, 11 sur 12 ne présentent aucune lésion pulmonaire. Ces résultats suggèrent que les lésions pulmonaires induites par une exposition aiguë à l'acide sulfurique ne sont pas séparables d'une constriction des voies aériennes. De plus, il a été fait l'hypothèse que la desquamation des cellules épithéliales résulte d'un stress mécanique, d'une hypoxie ou d'une acidose locale des tissus.

Afin de savoir si l'acide sulfurique peut altérer la sensibilité des voies aériennes à un agent tel que l'histamine. Vingt trois cobayes âgés de 1,5 mois ont été exposés à 4 et à 40 mg/m<sup>3</sup> (0,9 et 10 ppm) d'acide sulfurique dont la taille des particules est de 1 µm et 15 cobayes ont été exposés à 7 et à 145 ppm de dioxyde d'azote (contrôle positif induisant une hypersensibilisation des voies aériennes). Un lot de 11 cobayes a été exposé à de l'air ambiant (animaux contrôles). La durée de toutes ces expositions est de 1 heure. Avant l'exposition et 10 minutes, 2 heures et 19 heures après l'exposition, les cobayes ont été exposés à de l'histamine sous forme d'aérosol. Les fonctions respiratoires ont été mesurées pendant cette exposition à l'histamine. Les cobayes exposés au dioxyde d'azote présentent une augmentation de la sensibilité à l'histamine et le degré de sensibilisation est directement dépendant de la concentration en dioxyde d'azote. Parmi les 23 cobayes qui ont développé une constriction des voies aériennes pendant l'exposition, seuls 6 présentaient une augmentation de la sensibilité à l'histamine. Ce résultat indique que l'acide sulfurique ne sensibilise pas les voies aériennes des cobayes à l'histamine contrairement au dioxyde d'azote.

#### ◆ **Chen et al. (1992) - cotation 1**

Des cobayes (6/lot) ont été exposés pendant 3 heures à un aérosol de 300 µg/m<sup>3</sup> (0,07 ppm) d'acide sulfurique de 0,3 µm ou de 0,04 µm. Les cobayes ont été euthanasiés tout de suite après l'exposition ou 24 heures après celle-ci.

Cette étude a montré que l'acide sulfurique peut induire une altération importante des fonctions cellulaires et du PH intracellulaire des macrophages alvéolaires. Les types d'altérations varient en fonction de la taille des particules.

L'exposition aux fines particules induit juste après l'exposition, une augmentation de l'activité de la β-glucuronidase et une augmentation de la concentration des protéines LDH (lactate dehydrogenase) et des protéines présentes dans le lavage bronchoalvéolaire. Vingt quatre heures après l'exposition, l'activité de la β-glucuronidase et le taux de protéines sont comparable aux niveaux mesurés avant l'exposition. L'exposition aux particules ultrafines induit une augmentation de la concentration de LDH et de protéines présentes dans le lavage bronchoalvéolaires. Vingt quatre heures après la fin de l'exposition, ces concentrations sont identiques à celles mesurées avant l'exposition. L'exposition à des particules fines ou ultrafines d'acide sulfurique pendant 3 heures n'altère pas la production de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par les macrophages. La sécrétion spontanée et stimulée de TNF-α produit par les macrophages alvéolaires est augmentée immédiatement après une exposition de 3 heures aux fines particules. Cette sécrétion n'est pas

modifiée après une exposition de 3 heures aux particules ultrafines. Vingt quatre heures après une exposition de 3 heures, les fines particules augmentent *in vitro* l'activité de phagocytose des macrophages. Alors que les particules ultrafines induisent une diminution de cette activité. Enfin, le PH intracellulaire des macrophages diminue après une exposition de 3 heures aux 2 types de particules. Cette diminution persiste 24 heures après la fin de l'exposition aux particules ultrafines.

◆ **Qu et al. (1993) - cotation 1**

Des cobayes (4 à 6/lot) ont été exposés pendant 3 heures ou 3 heures/jour pendant 5 jours à de l'acide sulfurique (particules de 0,3 µm). Les concentrations d'acide sulfurique sont respectivement de 969 et de 974 µg/m<sup>3</sup> soit 0,237 et 0,238 ppm. L'euthanasie des animaux a eu lieu immédiatement après la fin de l'exposition.

Une diminution du PH intracellulaire des macrophages a été mesurée quelle que soit la durée d'exposition à l'acide sulfurique. Cette diminution est attribuée à une modification de la diffusion des ions Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>.

◆ **Roth et al. (1998) - cotation 1 ou 2**

Des cobayes femelles ont été exposées pendant 4 heures à différentes concentrations d'acide sulfurique dont la taille des particules est comprise entre 0,90 et 0,96 µm. Les différentes concentrations d'acide sulfurique sont 14,1 mg/m<sup>3</sup> soit 3,4 ppm (6 animaux), 20,1 mg/m<sup>3</sup> soit 4,9 ppm (6 animaux) et 43,3 mg/m<sup>3</sup> soit 10,6 ppm (24 animaux). Dix huit animaux contrôles ont été exposés à de l'aérosol d'eau pur. Les fonctions pulmonaires de chaque cobaye ont été mesurées pendant l'exposition (dans les 15 minutes) puis 1, 2, 4 et 24 heures après la fin de l'exposition.

Un examen histologique des poumons a été pratiqué immédiatement après l'exposition chez 6 cobayes exposés à la concentration d'acide sulfurique la plus élevée. De plus, pour toutes les concentrations d'acide sulfurique testées, 3 cobayes ont été sacrifiés 24 heures après la fin de l'exposition et un examen histologique des poumons a été réalisé. Un lavage bronchoalvéolaire a été réalisé chez 6 cobayes témoins et 6 cobayes ayant été exposé à la concentration la plus élevée d'acide sulfurique.

A la concentration la plus élevée (43,3 mg/m<sup>3</sup>) et immédiatement à la fin de l'exposition, l'acide sulfurique induit une augmentation du volume courant et une diminution de la fréquence respiratoire. L'analyse du lavage bronchoalvéolaire immédiatement après l'exposition a mis en évidence une augmentation des cellules inflammatoires et des protéines. L'examen histologique des poumons a montré la présence de membranes hyalines et de cellules inflammatoires dans les régions acineuses proximales. Après 24 heures d'exposition, une diminution du volume courant et une augmentation de la fréquence respiratoire ont été observées. Le profil respiratoire est entre coupé de courtes périodes de dyspnée.

La mesure des fonctions pulmonaires après une exposition à l'acide sulfurique à la concentration la plus faible a montré une augmentation significative de la fréquence respiratoire et peu d'effet sur le volume courant. Ces effets diminuent

avec le temps et 24 heures après la fin de l'exposition, les paramètres ventilatoires sont identiques à ceux mesurés chez les animaux témoins. A la concentration intermédiaire, les effets sont variables en fonction des cobayes testés. Chez certains cobayes, les effets sont similaires à ceux observés pour la concentration la plus élevée d'acide sulfurique et chez d'autres, les effets observés sont identiques à ceux induits par la concentration la plus faible d'acide sulfurique.

#### ◆ **Mannix *et al.* (1991) - cotation 1**

Le but de cette étude est double. Evaluer les effets de l'acide sulfurique sur la clairance et valider le furet comme animal de laboratoire pour étudier les effets de toxiques sur la clairance du tractus respiratoire.

Des furets (10/lot) ont été exposés (oronasalement) pendant 4 heures à de l'air purifié, à 0,5 ou à 1 mg/m<sup>3</sup> (0,12 ou 0,24 ppm) d'acide sulfurique (particules de 0,3 µm). Après l'exposition à l'air ou à l'acide sulfurique, les furets ont été exposés à des microsphères de chrome radioactif (taille de 1,9 µm). Afin d'étudier la clairance du tractus respiratoire, le trajet des microsphères radioactives a été suivi 15 minutes, 1, 2, 3, 4, 5, 9, 24, 48, 95, 165, 332, 500 et 668 heures après la fin de l'exposition. La clairance a été étudiée dans 2 zones distinctes. La première zone s'étend de la pointe du museau à la 1<sup>ère</sup> moitié de la trachée et la seconde zone s'étend de la 2<sup>ème</sup> partie de la trachée (partie basse) jusqu'aux alvéoles. Les résultats ont montré que l'acide sulfurique, quelle que soit la concentration, n'induit pas de changement significatif de la clairance au niveau de la première zone d'observation. Par contre, l'acide sulfurique à la concentration de 1 mg/m<sup>3</sup> induit une accélération de la clairance dans la région la plus profonde du tractus respiratoire (zone 2).

Plusieurs heures après la fin de l'exposition aux microsphères radioactives, la clairance observée chez les furets exposés à de l'air purifié est très proche de celle observée chez l'homme. Le furet s'avère donc être un bon modèle pour l'étude de la clairance respiratoire.

#### ◆ **Lee *et al.* (1999) - cotation 1**

Douze rats femelles Fisher 344 ont été exposés en corps entier à 100 mg/m<sup>3</sup> (24,5 ppm) d'acide sulfurique sous forme d'aérosol (taille des particules 0,8 µm) pendant 4 heures. Les animaux ont été séparés par lots de 6. Les animaux du premier groupe ont été euthanasiés et des analyses histo-pathologiques ont été réalisées. Quant aux animaux du second groupe, des lavages broncho-alvéolaires ont été effectués, le surfactant a été extrait et des analyses ont permis de déterminer la valeur de la tension de surface.

Les résultats n'ont montré aucune différence de tension de surface des surfactants provenant des animaux témoins et traités. De plus, aucune anomalie histo-pathologique n'a été observée.

La même expérience a été réalisée avec des cobayes. Douze femelles Hartley ont été exposés en corps entier à 50 mg/m<sup>3</sup> (12,2 ppm) d'acide sulfurique sous forme d'aérosol (taille des particules 0,93 µm) pendant 4 heures.



Les résultats ont mis en évidence une augmentation de la tension de surface du surfactant :  $2,01 \pm 0,12$  (témoins) et  $12,08 \pm 2,68$  (traités). De plus, les analyses histo-pathologiques ont révélé l'existence d'un œdème de l'épithélium associé à une infiltration de polynucléaires neutrophiles et éosinophiles dans les voies aériennes supérieures. Au niveau des voies aériennes inférieures, l'exposition à l'acide sulfurique a induit une bronchoconstriction et une exfoliation des cellules épithéliales.

## 5.2.2 CHEZ LE LAPIN

### ◆ Naumann et Schlesinger (1986) - cotation 1

Le but de cette étude est d'évaluer l'effet de l'acide sulfurique sur la clairance alvéolaire. Des lapins ont été exposés (exposition intratrachéale) à des particules de polystyrène et la rétention de ces particules a été suivie dans le temps. Deux mois après, une seconde exposition à ces particules a été effectuée. Cette exposition a été immédiatement suivie d'une exposition (par voie endotrachéale) d'une heure à de l'air pur (30 lapins) ou à  $1 \text{ mg/m}^3$  ( $0,24 \text{ ppm}$ ) d'acide sulfurique dont la taille moyenne des particules est de  $0,3 \mu\text{m}$  (30 lapins). Les animaux ont été sacrifiés 1 heure, 12 heures, 1, 2, 14 et 28 jours après la fin de l'exposition. La clairance alvéolaire a été mesurée et un lavage bronchopulmonaire a été effectué afin d'étudier les fonctions des macrophages alvéolaires. Dix lapins non exposés ont été également sacrifiés et les mêmes paramètres ont été étudiés.

La clairance alvéolaire est plus importante chez les lapins exposés à l'acide sulfurique que chez les lapins. Par contre, l'acide sulfurique n'altère pas la viabilité ni le nombre de macrophages. Comparés aux lapins non exposés, une augmentation du nombre de leucocytes polynucléaires et des neutrophiles a été observée 1 heure après l'exposition chez les lapins exposés à l'acide sulfurique et à l'air pur. *In vivo*, la phagocytose des particules traceurs par les macrophages est augmentée 3 heures après la fin de l'exposition à l'acide sulfurique. *In vitro*, une diminution de l'adhérence des macrophages a été observée après l'exposition à l'acide sulfurique ainsi qu'une augmentation de la phagocytose par les leucocytes polynucléaires.

### ◆ Zelikoff et Schlesinger (1992) - cotation 1

Des lapins mâles (5/lot) ont été exposés par voie oronasale pendant 2 heures à de l'air filtré ou à 50, 75, 125 et  $500 \mu\text{g/m}^3$  ( $1,2 \cdot 10^{-2}$ ,  $1,8 \cdot 10^{-2}$ ,  $3 \cdot 10^{-2}$  et  $0,12 \text{ ppm}$ ) d'acide (particules de  $0,3 \mu\text{m}$ ). Les animaux ont été sacrifiés immédiatement après l'exposition et des lavages bronchopulmonaires ont été effectués.

Les résultats révèlent une diminution de l'activité cytotoxique du TNF- $\alpha$  stimulé par le LPS (lipopolysaccharide) après une exposition à 75, 125 ou à  $500 \mu\text{g/m}^3$  d'acide sulfurique. A la concentration de  $50 \mu\text{g/m}^3$  une diminution de cette activité est également observée, mais elle n'est pas significative.

Une diminution significative de la production du radical oxygéné ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) par les macrophages a été constatée après une exposition à 75, 125 ou à  $500 \mu\text{g/m}^3$  d'acide sulfurique.

#### ◆ El-Fawal et Schlesinger (1994) - cotation 1

Cette étude examine l'impact d'une exposition aiguë à l'acide sulfurique sur l'hyperréactivité des voies aériennes. Des lapins mâles (5/lot) ont été exposés pendant 3 heures à différentes concentrations d'acide sulfurique (50, 75, 125, 520 et 500  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  soit  $1,2 \cdot 10^{-2}$ ,  $1,8 \cdot 10^{-2}$ ,  $3 \cdot 10^{-2}$  et 0,12 ppm) dont la taille des particules est de 0,3  $\mu\text{m}$ . Quinze lapins ont été également exposés à un aérosol d'eau distillée (animaux contrôles). Après les expositions, les lapins ont été euthanasiés et des sections de la trachée et des bronches ont été prélevées afin d'évaluer la réponse à 2 agents, l'acétylcholine et l'histamine.

Une hyperréactivité bronchique aux 2 agents a été notée après une exposition à de l'acide sulfurique dont la concentration est supérieure ou égale à 75  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ . L'acide sulfurique, aux mêmes concentrations, altère également la réponse de la trachée à l'histamine.

### 5.2.3 CHEZ LE CHIEN

#### ◆ Wolff *et al.* (1980) - cotation 1 ou 2

Huit chiens (5 femelles et 3 mâles) ont été exposés pendant 1 heure à différentes concentrations d'acide sulfurique (particules de 0,3  $\mu\text{m}$  ou de 0,9  $\mu\text{m}$ ). Pour les particules de 0,3  $\mu\text{m}$ , les concentrations d'acide sulfurique sont de 1 et de 5  $\text{mg}/\text{m}^3$  (0,24 et 1,2 ppm). Pour les particules de 0,9  $\mu\text{m}$ , les concentrations sont de 0,5 et de 1  $\text{mg}/\text{m}^3$  (0,12 et 0,24 ppm). Avant ces expositions, les chiens ont été anesthésiés, une fibre optique a été installée dans la trachée et lorsque l'anesthésie n'agit presque plus, des gouttes contenant de l'albumine radiomarquée ont été déposées entre la trachée et la bronche principale. Pendant le réveil des animaux, des photos de la trachée ont été prises, grâce à une caméra, et toutes les 5 minutes pendant 25 minutes ce qui permet de mesurer la vitesse de propagation du mucus de la trachée. Cette vitesse est mesurée une semaine avant l'exposition, 1 jour puis 1,3 (uniquement pour les particules de taille 0,3  $\mu\text{m}$ ) et 5 semaines après l'exposition à l'acide sulfurique.

Aucun changement significatif n'a été observé après une exposition à l'acide sulfurique dont la taille des particules est de 0,3  $\mu\text{m}$  quelle que soit la concentration. A la concentration de 1  $\text{mg}/\text{m}^3$ , l'acide sulfurique (particules de 0,9  $\mu\text{m}$ ) induit une diminution significative de la vitesse de propagation du mucus de la trachée, 30 minutes, 1 jour et même 1 semaine après l'exposition. La vitesse de propagation est identique à celle mesurée avant l'exposition, 5 semaines après la fin de l'exposition.

A la concentration de 0,5  $\text{mg}/\text{m}^3$ , une légère augmentation mais non significative de la clairance a été observée 30 minutes et 1 jour après l'exposition. Une semaine après l'exposition, une diminution significative de la clairance a été constatée.

#### ◆ **Sackner et al. (1978) - cotation 2**

Cette étude évalue l'effet de l'acide sulfurique sur le système cardio-respiratoire chez les chiens, les moutons et chez l'homme. Seule, l'étude chez le chien sera rapportée ici.

Treize chiens ont été anesthésiés. Pendant l'anesthésie, 5 chiens ont reçu par inhalation du chlorure de sodium sous forme d'aérosol pendant 7,5 minutes et 5 autres chiens ont été exposés à un aérosol généré par une solution de 0,1 % d'acide sulfurique. Les mesures des fonctions mécaniques du système respiratoire ont été effectuées avant l'exposition puis, 5, 15, 30, 60, 120 et 180 minutes après les expositions. Après ces mesures, les chiens ont été de nouveau exposés à des aérosols générés soit par une solution de 1 % de chlorure de sodium soit par une solution de 1 % d'acide sulfurique et les mesures ont été répétées 15 et 30 minutes après la fin de ces expositions. Dans une autre série d'expérience, 5 chiens ont été exposés pendant 4 heures à du chlorure de sodium et 5 à un aérosol généré par une solution de 0,5 % d'acide sulfurique. Les fonctions cardio-pulmonaires ont été mesurées avant les expositions, 1 heure pendant les expositions et 2 heures après la fin de ces expositions.

Cette étude a mis en évidence qu'une exposition aiguë à de l'acide sulfurique ne provoque pas d'altération immédiate ou retardée des fonctions cardiaques et pulmonaires chez les chiens anesthésiés pour une exposition à des concentrations d'acide sulfurique allant jusqu'à  $8 \text{ mg/m}^3$  (1,9 ppm) et pour une exposition de 4 heures à  $4 \text{ mg/m}^3$  (1 ppm) d'acide sulfurique.

### **5.2.4 CHEZ LE MOUTON**

#### ◆ **Sackner et al. (1978) - cotation 2**

Cette étude évalue l'impact de l'acide sulfurique sur le système cardio-respiratoire du chien, du mouton et de l'homme. Seule, l'étude chez le mouton sera rapportée ici.

Un lot de 6 moutons a été exposé pendant 20 minutes à de l'air, à un aérosol de chlorure de sodium et à un aérosol contenant 1 % d'acide sulfurique. La vitesse de propagation du mucus de la trachée a été mesurée avant les expositions puis 30, 60, 120 et 180 minutes après la fin des expositions.

Un autre lot de 10 moutons a été exposé pendant 20 minutes à un aérosol contenant 2 % d'acide sulfurique. La vitesse de propagation du mucus de la trachée a été mesurée avant les expositions puis 30, 60, 120 et 180 minutes ainsi que 5 et 10 jours après la fin de ces expositions.

Enfin, dans une troisième série d'expériences, 6 moutons ont été exposés pendant 4 heures à un aérosol généré par une solution de 0,5 % d'acide sulfurique. La vitesse de propagation du mucus de la trachée a été mesurée avant les expositions, à la fin des expositions et 2 heures après la fin de ces expositions.

Cette étude a mis en évidence qu'une exposition aiguë à de l'acide sulfurique ne provoque pas d'altération immédiate ou retardée des fonctions cardiaques et pulmonaires chez les moutons exposés pendant 20 minutes à des concentrations

allant jusqu'à 14 mg/m<sup>3</sup> (3,4 ppm) ou exposés pendant 4 heures à 4 mg/m<sup>3</sup> (1 ppm) d'acide sulfurique.

### **5.2.5 CHEZ LES PRIMATES NON HUMAINS**

Aucune étude n'est disponible.

## **6. ANALYSE DES DONNEES DE TOXICITE**

### **6.1 ANALYSE DES DONNEES DE MORTALITE**

#### **6.1.1 ETUDES QUALITATIVES**

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

◆ **Runckle and Hahn (1976) - cotation 1-2**

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

Les données expérimentales des études de Wolff (1979) et Treon (1950) n'ont pas été utilisées pour l'analyse probit en raison de leur 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  $i$ .

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)]. Le tableau 2 en Annexe (§ 9.) donne les valeurs obtenues.

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<sup>®</sup>) a permis d'obtenir les paramètres des équations probit.

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

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

- **Souris**  $Y = 1,96 \ln(\text{concentration}) + 0,49 \ln(\text{temps}) - 12,99$   
 $n = 1,96/0,49 = 3,98$       IC95 [11,70 – 1,72]

- **Rat**  $Y = 1,84 \ln(\text{concentration}) + 1,07 \ln(\text{temps}) - 15,16$   
 $n = 1,84/1,07 = 1,72$       IC95 [2,41 – 0,86]

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

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

## 6.2 ANALYSE DES EFFETS NON LETAUX

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

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

Concentration (ppm)	Temps (min)	Effets	Référence
0,01	2	Diminution du volume courant	Amdur (1952a)
0,24 (taille : 0,5 µm)	30	Augmentation de la clairance mucociliaire et légère augmentation du maximum d'air expiré	Newhouse (1979)
0,02 (taille : 0,3 µm)	120	Aucune modification des fonctions respiratoires	Avol <i>et al.</i> (1979)
0,02	240	Aucune modification des paramètres sanguins	Chaney <i>et al.</i> (1980)
0,02 (taille : 0,5 µm)	60	Altération de la clairance mucociliaire bronchique	Leikauf (1981)
0,08 (taille : 0,5 µm)			
0,24 (taille : 0,5 µm)			
0,02	240	Aucune modification des fonctions pulmonaires	Stacy <i>et al.</i> (1983)
0,02	16	Aucun effet néfaste	Utell <i>et al.</i> (1984)
0,24	16	Potentialisation de l'action du carbachol sur la conductance des voies aériennes	

0,01 (taille :0,9 µm)	60	Pas de symptôme irritant, aucun changement de la fonction pulmonaire	Avol <i>et al.</i> (1988)
0,26 (taille :0,9 µm)	60		
0,37 (taille :0,9 µm)	60		
0,02	60	Aucun effet néfaste	Spektor <i>et al.</i> (1989)
	120	Aucun effet néfaste	
0,24	60	Altération de la clairance mucociliaire	
	120	Altération de la clairance mucociliaire	
0,24	120	Pas d'influx de cellules inflammatoires au niveau des alvéoles et aucune preuve d'altération de la défense antimicrobienne.	Frampton <i>et al.</i> (1992)
0,02	40	Aucune altération des fonctions mécaniques du système respiratoire	Koenig <i>et al.</i> (1993)
0,24	120	Aucune modification de la composition des sécrétion bronchiques	Culp <i>et al.</i> (1995)

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

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

Espèce	Concentration (ppm)	Temps (min)	Effets	Référence
Cobaye	0,4 (taille :0,8 µm)	60	Augmentation de la résistance pulmonaire et diminution de la fréquence respiratoire	Amdur (1958)
	1,3 (taille :0,8 µm)			
	3,8 (taille :0,8 µm)			



	6,4 (taille :0,8 µm)			
	10,3 (taille :0,8 µm)		Augmentation de la résistance pulmonaire, diminution de la fréquence respiratoire et augmentation du poids relatif des poumons	
	0,5 (taille :2,5 µm)	60	Augmentation de la résistance pulmonaire et diminution de la fréquence respiratoire	
	2,2 (taille :2,5 µm)			
	3,8 (taille :2,5 µm)			
	10,7 (taille :2,5 µm)		Augmentation de la résistance pulmonaire, diminution de la fréquence respiratoire et augmentation du poids relatif des poumons	
	7,5 (taille :7 µm)	60	Aucun effet néfaste	
Cobaye	3,6 (taille :0,8 µm)	60	Augmentation de la résistance pulmonaire et diminution de la compliance. Constriction bronchique	Amdur (1959)
	3,6 (taille :2,5 µm)		Augmentation de la résistance pulmonaire et diminution de la compliance. Obstruction partielle des bronches	
Cobaye	0,024 (taille :0,3 µm)	60	Augmentation de la résistance pulmonaire et diminution de la compliance	Amdur <i>et al.</i> (1978)
	0,12 (taille :0,3 µm)			
	0,24 (taille :0,3 µm)			
	0,02 (taille :1 µm)		Aucun effet néfaste	
	0,01 (taille :1 µm)			
	0,17 (taille : 1 µm)		Diminution de la compliance	
	0,2 (taille :1 µm)			

Cobaye	6,12 (taille :1 µm)	2 jours	Lésions pulmonaires (œdème et hémorragie). Prolifération des macrophages et des pneumocytes au niveau des lésions	Cockrell et William (1978)
Cobaye	8 (taille :1 µm)	240	Hyperinflammation diffuse des poumons et desquamation des cellules épithéliales bronchiques	Brownstein (1980)
Cobaye	0,07 (taille :0,3 µm)	180	Augmentation de l'activité de la β-glucuronidase, de la concentration en LDH et en protéines, de la sécrétion de TNF-α, de l'activité de phagocytose des macrophages <i>in-vitro</i> . Diminution du PH intracellulaire des macrophages	Chen <i>et al.</i> (1992)
	0,07 (taille :0,04 µm)		Augmentation de la concentration en LDH et en protéines. Diminution de l'activité de phagocytose des macrophages <i>in-vitro</i> et du PH intracellulaire des macrophages	
Cobaye	0,24 (taille :0,3 µm)	180	Diminution du PH intracellulaire des macrophages	Qu <i>et al.</i> (1993)
	0,24 (taille :0,3 µm)	180 min/j pd 5 jours		
Cobaye	3,4	240	Augmentation de la fréquence respiratoire	Roth <i>et al.</i> (1998)
	4,9		Effets variables en fonction des cobayes	
	10,6		Augmentation du volume courant et des cellules inflammatoires et des protéines dans le lavage bronchoalvéolaire. Diminution de la fréquence respiratoire	
Furet	0,12 (taille :0,3 µm)	240	Aucun effet néfaste	Mannix <i>et al.</i> (1991)
	0,24 (taille :0,3 µm)		Accélération du taux de clairance mucociliaire dans la région la plus profonde du tractus respiratoire	

Lapin	0,24 (taille :0,3 µm)	60	Augmentation de la clairance alvéolaire, de la phagocytose des particules traceurs et de la phagocytose <i>in-vitro</i> des leucocytes polynucléaires. Diminution de l'adhérence <i>in-vitro</i> des macrophages	Naumann et Schlesinger (1986)
Lapin	0,012 (taille :0,3 µm)	120	Aucun effet néfaste	Zelikoff et Schlesinger (1992)
	0,018 (taille :0,3 µm)		Diminution de l'activité cytotoxique du TNF- $\alpha$ stimulé par le LPS et de la production de radical oxygéné par les macrophages	
	0,03 (taille :0,3 µm)			
	0,12 (taille :0,3 µm)			
Lapin	0,012 (taille :0,3 µm)	180	Aucun effet néfaste	El-Fawal et Schlesinger (1994)
	0,018 (taille :0,3 µm)		Hyperréactivité bronchique en réponse à l'acétylcholine et à l'histamine et altération de la réponse de la trachée vis-à-vis de l'histamine	
	0,03 (taille :0,3 µm)			
	0,12 (taille :0,3 µm)			
Chien	0,24	60	Aucun effet néfaste	Wolff <i>et al.</i> (1980)
	1,22		Diminution de la clairance	
	0,12			
	0,24			

## **7. REVUE DES RESULTATS**

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

Les études de létalité chez l'animal sont disponibles chez les rongeurs et les lapins avec une sensibilité nettement plus importante chez les cobayes. Pour cette raison, cette espèce sera donc écartée. De plus, les données disponibles chez les lapins ne sont pas de très bonne qualité. Ainsi, les deux espèces retenues sont donc le rat et la souris. Les études de létalité concernant ces deux espèces ont été faites par le même auteur dans des conditions expérimentales proches.

Enfin, les données disponibles chez l'homme et l'animal permettent de constater que les modes d'action toxique de cette substance semblent proches. Ceci permet donc d'extrapoler les données animales à l'homme.

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

***Aucune donnée exploitable n'étant disponible pour le trioxyde de soufre, la détermination des valeurs seuils a été réalisée uniquement pour l'acide sulfurique.***

Les tableaux des annexes n°2 et 3 donnent pour chaque espèce : rat et souris (Runckle et Hahn, 1976) le mode de la CL<sub>50</sub>, la CL<sub>05</sub> et la CL<sub>01</sub> et leurs intervalles de confiance pour des durées d'exposition de 1, 10, 20, 30, 60, 120, 240 et 480 minutes. Le mode correspond à la valeur statistiquement la plus probable.

Les valeurs de CL<sub>01</sub> et CL<sub>05</sub> obtenues en fonction du temps pour les 2 espèces animales sont les suivantes :

Temps (min)	CL <sub>01</sub> (ppm)		CL <sub>05</sub> (ppm)	
	Rat	Souris	Rat	Souris
1	1054	231	1528	328
10	278	130	403	184
20	186	110	270	155
30	147	98	213	140
60	99	83	143	117
120	66	70	96	99
240	44	58	64	83
480	30	49	43	70

Les analyses statistiques mettent en évidence une puissance statistique plus importante pour la souris (Runckle et Hahn, 1976). Ainsi, le groupe d'expert a décidé de retenir cette espèce pour la détermination des seuils d'effets létaux en cas d'émission accidentelle d'acide sulfurique :

TEMPS (min)	S.E.L. 1%	
	mg/m <sup>3</sup>	ppm
1	942	231
10	530	130
20	449	110
30	400	98
60	339	83
120	286	70
240	237	58
480	200	49

TEMPS (min)	S.E.L. 5%	
	mg/m <sup>3</sup>	ppm
1	1338	328
10	751	184
20	632	155
30	571	140
60	477	117
120	404	99
240	339	83
480	286	70

### 7.3 SEUILS DES EFFETS IRREVERSIBLES

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

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

TEMPS (min)	S.E.I.	
	mg/m <sup>3</sup>	ppm
1	106	26
10	57	14
20	49	12
30	45	11
60	37	9
120	33	8
240	24	6
480	20	5

#### 7.4 SEUILS DES EFFETS REVERSIBLES

Concernant les effets réversibles, l'analyse des données disponibles dans la littérature montre des résultats contradictoires et n'a pas permis aux experts toxicologues de fixer des seuils des effets réversibles.

#### 7.5 SEUIL DE PERCEPTION

Peu d'études sont disponibles à ce sujet. L'INRS a publié récemment la valeur de 0,25 ppm (Falczy et Malard, 2005).

## 8. CONCLUSION

### ♦ Seuils d'effets létaux

TEMPS (min)	S.E.L. 1%	
	mg/m <sup>3</sup>	ppm
1	942	231
10	530	130
20	449	110
30	400	98
60	339	83
120	286	70
240	237	58
480	200	49

TEMPS (min)	S.E.L. 5%	
	mg/m <sup>3</sup>	ppm
1	1338	328
10	751	184
20	632	155
30	571	140
60	477	117
120	404	99
240	339	83
480	286	70

◆ **Seuils d'effets irréversibles**

TEMPS (min)	S.E.I.	
	mg/m <sup>3</sup>	ppm
1	106	26
10	57	14
20	49	12
30	45	11
60	37	9
120	33	8
240	24	6
480	20	5

◆ **Seuils d'effets réversibles**

Les données de la littérature ne sont pas suffisantes pour permettre la détermination de seuils des effets réversibles pour l'acide sulfurique.

◆ **Seuil de perception**

Seuil proposé : 0,25 ppm.



## **9. RÉFÉRENCES**

- Amdur M.O.** (1958) - The respiratory response of guinea pigs to sulfuric acid mist. *Arch Ind Health*, **18**, 407-414.
- Amdur M.O.** (1959) - The physiological response of guinea pigs to atmospheric pollutants. *Int J Air poll*, **1**, 170-183.
- Amdur M.O., Dubriel M. and Creasia D.A.** (1978) - Respiratory response of guinea pigs to low levels of sulfuric acid. *Environ Res*, **15**, 418-423.
- Amdur M.O., Silverman L. and Drinker P.** (1952a) - Inhalation of sulfuric acid mist by human subjects. *Ind Hyg Occup Med*, **6**, 4, 305313.
- Amdur M.O. and Schulz R.Z.** (1952b) - Toxicity of sulfuric acid mist to guinea pigs. *Arch Ind Hyg*, **5**, 318-329.
- ATSDR** (1998) - Toxicological Profile for sulfur trioxide and sulfuric acid. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA: U.S Department of Health and Human Services. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxpro2.html>.
- Avol E.L., Jones M.P., Bailey R.M., Chang N.N., Kleinman M.T., Linn W.S., Bell K.A. and Hackney J.D.** (1979) – Controlled exposure of human volunteers to sulfate aerosols. *Am Rev Resp Dis*, **120**, 319-327.
- Avol E.L., Linn W.S., Whynot J.D., Anderson K.R., hamoo D.A., Valencia L.M., Little D.E. and Hackney J.D.** (1988) - Respiratory dose-response study of normal and asthmatic volunteers exposed to sulfuric acid aerosol in the sub-micrometer size range. *Toxicol Ind Health*, **4**, 173-184.
- Brownstein D.G.** (1980) - Reflex-mediated desquamation of bronchiolar epithelium in guinea pigs exposed acutely to sulfuric acid aerosol. *Am J Pathol*, **98**, 3, 577-590.
- Cavender F.L., Steinhagen W.H., Ulrich C.E., Busey W.M., Cockrell B.Y., Haseman J.K., Hogan M.D. and Drew R.T.** (1977) - Effects in rats and guinea pigs of short-term exposures to sulfuric acid mist, ozone, and their combination. *J Toxicol Environ*, **3**, 3, 521-533.
- Chaney S., Blomquist W., Muller K. and Goldstein G.** (1980) - Biochemical changes in humans upon exposure to sulfuric acid aerosol and exercise. *Arch Environ Health*, **35**, 4, 211-216.
- Chen L.C., Fine J.M., Qu Q.S., Amdur M.O. and Gordon T.** (1992) - Effects of fine and ultrafine sulfuric acid aerosols in guinea pigs: alterations in alveolar macrophage function and intracellular pH. *Toxicol Appl Pharmacol*, **113**, 1, 109-117.
- Cockrell B.Y., Busey W.M. and Cavender F.L.** (1978) - Respiratory tract lesions in guinea pigs exposed to sulfuric acid mist. *J Toxicol Environ Health*, **4**, 5-6, 835-844.
- Culp D.J., Latchney L.R., Frampton M.W., Jahnke M.R., Morrow P.E. and Utell M.J.** (1995) - Composition of human airway mucin and effects after inhalation of acid aerosol. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, **13**, L358-370.
- El\_Fawal H.A. and Schlesinger R.B.** (1994) - Nonspecific airway hyperresponsiveness induced by inhalation exposure to sulfuric acid aerosol: an in vitro assessment. *Toxicol Appl Pharmacol*, **125**, 1, 70-76.

**Falcy M. et Malard S.** (2005). – Comparaison des seuils olfactifs de substances chimiques avec des indicateurs de sécurité utilisés en milieu professionnel. *INRS – Hygiène et sécurité du travail – Cahiers de notes documentaires – ND 2221 – 198 – 05*; 7-21.

**Frampton M.W., Voter K.Z., Morrow P.E., Roberts N.J., Culp D.J., Cox C. and Utell M.J.** (1992) - Sulfuric acid aerosol exposure in humans assessed by bronchoalveolar lavage. *The Am Rev Respir Dis*, **146**, 3, 626-632.

**Gamble J., Jones W. and Hancock J.** (1984). Epidemiological-environmental study of lead acid battery workers. II. Acute effects of sulfuric acid on the respiratory system. *Environ. Res.* **35**, 1, 11-29.

**Goldman A. and Hill W.T.** (1953) - Chronic bronchopulmonary disease due to inhalation of sulfuric acid fumes. *A M A Arch Indust Hyg*, **8**, 205-211.

**Horvath S.M., Folinsbee L.J. and Bedi J.F.** (1982). Effects of large (0,9 µm) sulfuric acid aerosols on human pulmonary function. *Environ. Res.*, **28**, 123-130.

**INRS** (1997) – Acide sulfurique. *Fiche toxicologique n°30*; 1-6.

**Izmerov N.F., Sanotsky I.V. and Sidorov K.K.** (1982) - Toxicometric parameters of industrial toxic chemicals under single exposure. GKNT, Centre of International Projects. Moscow.

**Kikuchi R.** (2001). Environmental management of sulfur trioxide emission: impact of SO<sub>3</sub> on human health. *Environ Manage*, **27**, 837-844.

**Knapp M.J., Bunn W.B. and Stave G.M.** (1991) - Adult respiratory distress syndrome from sulfuric acid fume inhalation. *South Med J*, **84**, 8, 1031-1033.

**Koenig J.Q., Dumler K., Rebolledo V., Williams P.V. and Pierson W.E.** (1993) - Respiratory effects of inhaled sulfuric acid on senior asthmatics and nonasthmatics. *Arch Environ Health*, **48**, 171-175.

**Lee M.M., Green F.H., Roth S.H., Karkhanis A., Bjarnason S.G. and Schurch S.** (1999). Sulfuric acid aerosol induces changes in alveolar surface tension in the guinea pig but not in the rat. *Exp Lung Res*, **25**, 3, 229-244.

**Leikauf G., Yeates D.B., Wales K.A., Spektor D., Albert R.E. and Lippmann M.** (1981) - Effects of sulfuric acid aerosols on respiratory mechanics and mucociliary particle clearance in healthy non-smoking adults. *Am Indust Hyg Assoc J*, **42**, 273-282.

**Leikauf G.D., Spektor D.M., Albert R.E. and Lippman M.** (1984) - "Dose-Dependent Effects of Submicrometer Acid Aerosol on Particle Clearance from Ciliated Human Lung Airways,". *Am Ind Hyg Assoc J*, **45**, 285-292.

**Linn W.S., Avol E.L., Anderson K.R., Shamoo D.A., Peng R. and Hackney J.D.** (1989). Effect of droplet size on respiratory responses to inhaled sulfuric acid in normal and asthmatic volunteers. *Am Rev Respir Dis*, **140**, 1, 161-166.

**Mannix R.C., Phalen R.F. and Nguyen T.N.** (1991) - Effect of sulfuric acid on ferret respiratory tract clearance. *Inhal Toxicol*, **3**, 277-291.

**Naumann B.D. and Schlesinger B.** (1986) - Assessment of early alveolar particle clearance and macrophage function following an acute inhalation of sulfuric acid mist. *Exp Lung Res*, **11**, 13-33.

- Newhouse M.T., Wolff R.K., Dolovich M. and Obminski G.** (1978) - Effect of TLV levels of SO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> on bronchial clearance in exercising man. *Arch Environ Health*, **33**, 24-32.
- Pattle R.E., Burgess F. and Cullumbine H.** (1956) - The effects of a cold environment and of ammonia on the toxicity of sulphuric acid mist to guinea-pigs. *J Pathio Bacterial*, **72**, 219-232.
- Qu Q.S., Chen L.C., Gordon T., Amdur M. and Fine J.M.** (1993) - Alteration of pulmonary macrophage intracellular pH regulation by sulfuric acid aerosol exposures. *Toxicol Appl Pharmacol*, **121**, 1, 138-143.
- Roth S.H., Bjarnason S.G., De\_Sanctis G.T., Feroah T., Jiang X., Karkhanis A. and Green F.H.** (1998) - Ventilatory responses in awake guinea pigs exposed to acid aerosols. *J Toxicol Environ Health A*, **54**, 4, 261-283.
- Runckle B.K. and Hahn F.F.** (1976) - The toxicity of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> aerosols to CD-1 mice and Fisher-344 rats. *Ann Rep Inhal Toxicol Res Inst*, 435-439.
- Sackner M.A., Ford D., Fernandez R., Ciplej J., Perez D., Kwoka M., Reinhart M., Michaelson E.D., Schreck R. and Wanner A.** (1978) - Effects of sulfuric acid aerosol on cardio-pulmonary function of dogs, sheep and humans. *Am Rev Respir Dis*, **118**, 497-510.
- Silbaugh S.A., Mauderly J.L., Wolff R.K., Carpenter R.L., Brownstein D.G., Harkema J.R. and Rothenberg S.J.** (1982) - Pulmonary effects of acid sulfate inhalation in the guinea pig. Inhalation Toxicology Research Institute. Albuquerque.
- Sim M.S. and Pattle R.D.** (1957) - Effect of possible smog irritant on human subjects. *J Amer Med Assoc*, **165**, 1908-1913.
- Spektor D.M., Yen B.M. and Lippmann M.** (1989) - Effect of concentration and cumulative exposure of inhaled sulfuric acid on tracheobronchial particle clearance in healthy humans. *Environ Health Perspect*, **79**, 167-172.
- Stacy R.W., Seal J., E., House D.E., Green J., Roger L.J. and Raggio L.** (1983) - A survey of effects of gaseous and aerosol pollutants on pulmonary function of normal males. *Arch Environ Health*, **38**, 104-115.
- Stengel P.W., Bendele A.M., Cockerham S.L. and Silbaugh S.A.** (1993) - Sulfuric acid induces airway hyperresponsiveness to substance P in the guinea pig. *Agents Actions*, **39 Spec No**, C128-131.
- Stueven H.A., Coogan P. and Valley V.** (1993) - A hazardous material episode: sulfur trioxide. *Vet Hum Toxicol*, **35**, 1, 37-38.
- Treon J.F., Dutra F.R., Cappel J., Sigmon H. and Younker W.** (1950) - Toxicity of sulfuric acid mist. *AMA Arch Ind Hyg Occup Med*, **2:7**, 716-734.
- Utell M.J., Morrow P.E. and Hyde R.W.** (1984) - Airway reactivity to sulfate and sulfuric acid aerosols in normal and asthmatic subjects. *JAPCA*, **34**, 931-935.
- Vemot E.H., MacEwen J.D. and Haun C.C.** (1977) - Acute toxicity and skin corrosion data for some organic and inorganic compounds and aqueous solution. *Toxicol Appl Pharmacol*, **42**, 417-423.

**Wolff R.K., Muggenburg B.A. and Silbaugh S.A.** (1981) - Effect of 0.3 and 0.9 micron sulfuric acid aerosols on tracheal mucous clearance in beagle dogs. *Am Rev Respir Dis*, **123**, 3, 291-294.

**Wolff R.K., Silbaugh S.A., Brownstein D.G., Carpenter R.L. and Mauderly J.L.** (1979) - Toxicity of 0.4- and 0.8-microm sulfuric acid aerosols in the guinea pig. *J Toxicol Environ Health*, **5**, 6, 1037-1047.

**Zelikoff J.T. and Schlesinger R.B.** (1992) - Modulation of pulmonary immune defense mechanisms by sulfuric acid: effects on macrophage-derived tumor necrosis factor and superoxide. *Toxicology*, **76**, 3, 271-281.

## **10. LISTE DES ANNEXES**

<b>Repère</b>	<b>Désignation précise</b>	<b>Nb pages</b>
Annexe 1	Principales données expérimentales sur la mortalité induite par l'acide sulfurique.	3
Annexe 2	Seuils des effets létaux déterminés pour l'acide sulfurique chez la souris.	2
Annexe 3	Seuils des effets létaux déterminés pour l'acide sulfurique chez le rat.	2

## ANNEXE 1

Principales données expérimentales sur la mortalité induite par l'acide sulfurique.

Etudes	Espèces	Durée d'exposition (min)	Concentration (ppm)	Nombre de décès	Nombre d'animaux par lot	Valeur	
Treon <i>et al.</i> , (1950)	Rat	420	410	2	2	2	
			178	2	2		
			117	0	2		
			55	0	2		
			48	0	2		
		210	374	2	2		
			183	0	2		
			140	0	2		
		165	22	0	2		
		Souris	420	410	3		5
				178	2		5
				117	0		5
	55			0	5		
	48			0	5		
	210		374	2	5		
			183	3	5		
			140	2	5		
	165		22	0	5		
	Cobayes		420	55	2	2	
				48	3	3	
			180	52	2	6	
		165	22	3	3		
		60	45	2	3		
			31	0	3		
		30	45	1	2		
			30	0	3		
		15	42	1	3		
			29	0	3		

	Lapins	420	410	1	2	
			178	0	2	
			55	0	2	
			48	0	2	
			117	0	2	
		210	374	1	2	
			183	0	2	
			140	0	2	
		165	22	0	2	
		Wolff <i>et al.</i> (1979)	Cobayes	480	5,2(0,8 µm)	
7,7 (0,8 µm)	9				16	
10,4 (0,8 µm)	15				16	
10,5 (0,4 µm)	0				16	
20,3 (0,4 µm)	3				16	
26,7 (0,4 µm)	5				16	
CL <sub>50</sub> = 7,7 ppm						
Runckle <i>et Hahn</i> (1976)	Souris	480	179	7	10	1-2
			135	4	10	
			66	0	10	
		240	255	11	14	
			179	3	10	
			135	2	10	
			66	1	10	
		120	255	8	14	
			179	1	10	
			135	0	10	
			66	0	10	
		60	255	4	12	
			179	3	10	
			135	0	10	
			66	0	10	
		Rat	480	265	8	
	196			7	8	
179	7			8		
115	5			8		

		59	0	8
	240	267	4	8
		265	7	8
		196	6	8
		179	5	8
		115	4	8
		59	0	8
		120	267	3
	196		5	8
	179		2	8
	115		0	8
	59		0	8
	60	267	0	8
		196	0	8
		179	1	8
		115	1	8
		59	0	8



## Annexe 2

### **Seuils des effets létaux déterminés pour l'acide sulfurique chez la souris (Runckle et Hahn, 1976). La taille des particules de l'aérosol d'acide sulfurique est comprise entre 0,85 et 1,2 µm.**

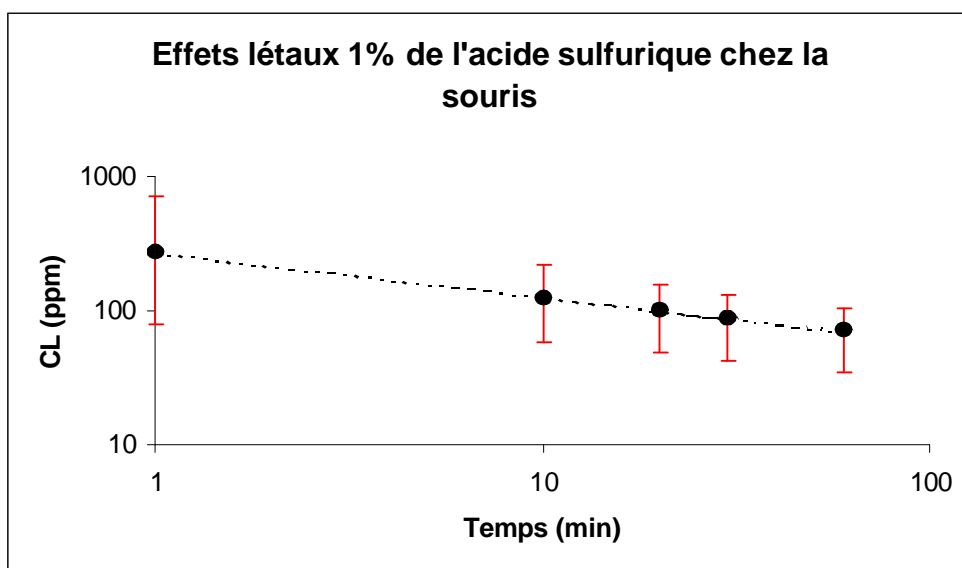
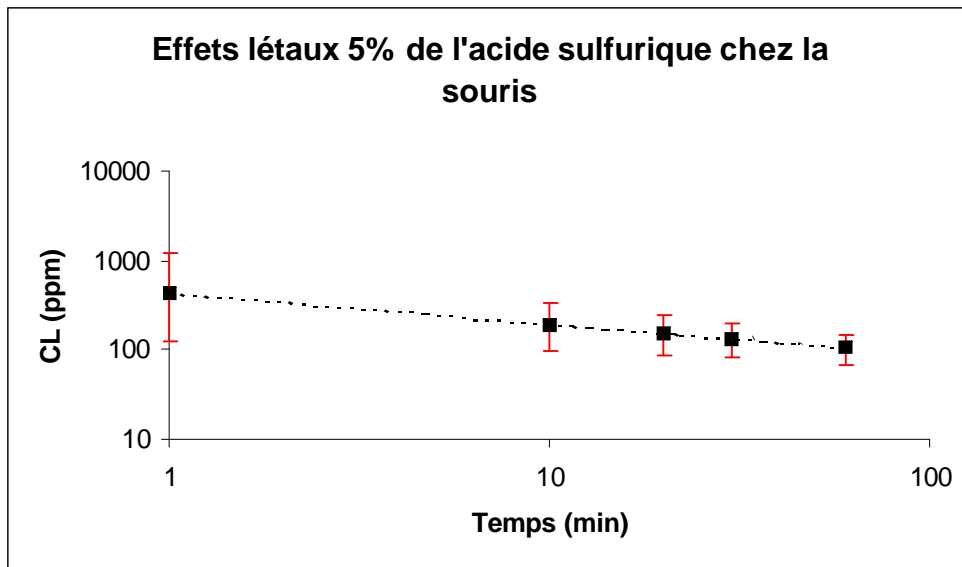
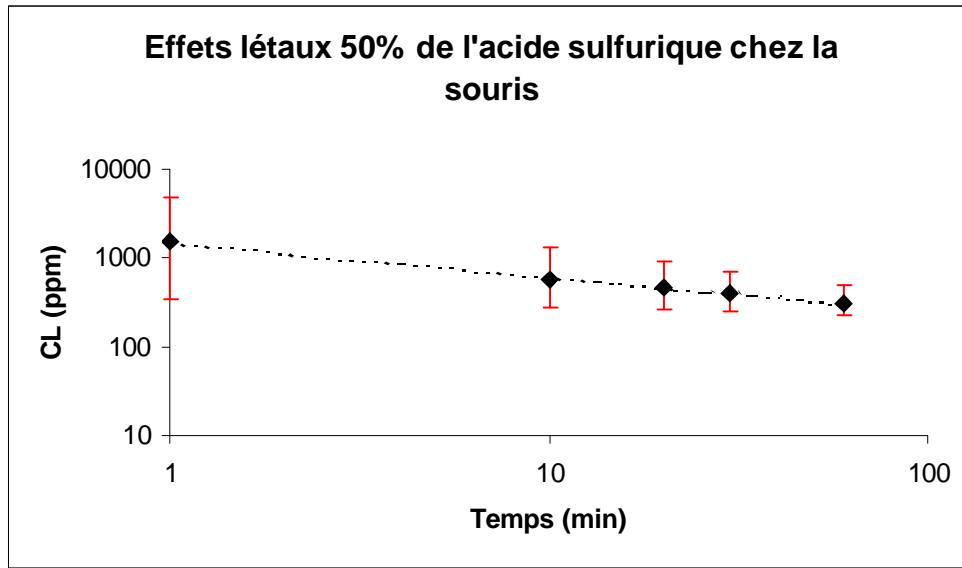
Le tableau suivant présente pour chaque durée d'exposition, la valeur du mode, de la moyenne ainsi que des bornes de l'intervalle de confiance.

Temps	CL1%		CL5%		CL50%	
	mode	moyenne	mode	moyenne	mode	moyenne
	[IC95]		[IC95]		[IC95]	
<b>1</b>	231	274	328	438	759	1520
	[79 ; 716]		[127 ; 1230]		[338 ; 4850]	
<b>10</b>	130	123	184	191	426	586
	[58 ; 217]		[99 ; 340]		[275 ; 1320]	
<b>20</b>	110	99	155	152	358	456
	[48 ; 158]		[88 ; 240]		[257 ; 894]	
<b>30</b>	98	87	140	134	323	396
	[43 ; 133]		[83 ; 196]		[246 ; 724]	
<b>60</b>	83	71	117	108	272	315
	[34 ; 103]		[69 ; 144]		[227 ; 503]	
<b>120</b>	70	58	99	88	228	252
	[26 ; 85]		[54 ; 114]		[204 ; 353]	
<b>240</b>	58	47	83	72	192	204
	[19 ; 73]		[40 ; 98]		[172 ; 259]	
<b>480</b>	49	39	70	59	161	167
	[13 ; 65]		[27 ; 88]		[128 ; 217]	

$$Y = 1,96 \ln(\text{concentration}) + 0,49 \ln(\text{temps}) - 12,99$$

$$n = 1,96/0,49 = 3,98 \quad \text{IC95 [11,70 - 1,72]}$$

**Graphique 1** : Seuils des effets létaux déterminés pour l'acide sulfurique chez la souris.



### Annexe 3

**Seuils des effets létaux déterminés pour l'acide sulfurique chez le rat (Runckle et Hahn, 1976). La taille des particules de l'aérosol d'acide sulfurique est comprise entre 0,85 et 1,2 µm.**

Le tableau suivant présente pour chaque durée d'exposition, la valeur du mode, de la moyenne ainsi que des bornes de l'intervalle de confiance

Temps	CL1%		CL5%		CL50%	
	mode	moyenne	mode	moyenne	mode	moyenne
	[IC95]		[IC95]		[IC95]	
<b>1</b>	1054	2460	1528	4470	3728	23800
	[424 ; 9770]		[632 ; 18000]		[1550 ; 91100]	
<b>10</b>	278	336	403	549	984	1950
	[155 ; 688]		[237 ; 1280]		[591 ; 6380]	
<b>20</b>	186	198	270	318	659	1060
	[106 ; 337]		[175 ; 585]		[443 ; 2880]	
<b>30</b>	147	147	213	233	521	760
	[83 ; 226]		[145 ; 379]		[373 ; 1810]	
<b>60</b>	99	89	143	140	349	439
	[48 ; 127]		[94 ; 191]		[277 ; 805]	
<b>120</b>	66	55	96	86	234	260
	[25 ; 81]		[52 ; 113]		[204 ; 367]	
<b>240</b>	44	34	64	53	156	157
	[12 ; 57]		[26 ; 78]		[132 ; 187]	
<b>480</b>	30	22	43	34	105	97
	[6 ; 41]		[12 ; 56]		[67 ; 126]	

$$Y = 1,84 \ln(\text{concentration}) + 1,07 \ln(\text{temps}) - 15,16$$

$$n = 1,84/1,07 = 1,72 \quad \text{IC95 [2,41 - 0,86]}$$

**Graphique 2** : Seuils des effets létaux déterminés pour l'acide sulfurique chez le rat.

