

RAPPORT D'ÉTUDE
N°DRC-09-103127-03344B

06/2010

Seuils de Toxicité aiguë
Acide nitrique

Seuils de Toxicité aiguë – Acide Nitrique

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

Client (ministère, industriel, collectivités locales) : MEEDDM

Liste des personnes ayant participé à l'étude : S.Vivier, JM. Vincent et S.Tissot

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.

	Rédaction	Vérification	Approbation
NOM	Stéphanie VIVIER	Sylvie TISSOT	Eric THYBAUD
Qualité	Ingénieur à l'Unité ETSC « Expertise et Evaluations en Toxicologie »	Responsable de l'Unité ETSC « Expertise et Evaluations en Toxicologie »	Responsable du Pôle VIVA Dangers et Impact sur le Vivant
Visa			

TABLE DES MATIÈRES

1. RESUME	6
2. INTRODUCTION	9
3. VALEURS OFFICIELLES EXISTANTES	12
4. ACIDE NITRIQUE ET FORMES CHIMIQUES ASSOCIEES LORS D'UNE EXPOSITION PAR INHALATION	14
5. DONNEES DE TOXICITE CHEZ L'HOMME	17
5.1 Données épidémiocliniques	17
5.2 Données expérimentales chez les Volontaires Sains	21
6. DONNEES DE TOXICITE CHEZ L'ANIMAL	25
6.1 Etude des effets létaux.....	25
6.2 Etude des effets non létaux.....	28
6.3 Etudes des données issues d'autres voies d'exposition	31
7. ANALYSE DES DONNEES DE TOXICITE	33
8. REVUE DES RESULTATS	37
8.1 Extrapolation des données expérimentales de l'animal à l'homme.....	37
8.2 Seuils d'effets létaux chez l'homme	37
8.3 Seuils des effets irréversibles	39
8.4 Seuils des effets réversibles.....	40
8.5 Seuil de perception	40
9. CONCLUSION	41
10. REFERENCES	43
11. LISTE DES ANNEXES	46

1. RESUME

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

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

Dans ce contexte, le Ministère de l'Ecologie, de l'Energie, du Développement durable et de l'Aménagement du Territoire (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 significatifs** (SELS), des **"seuils des premiers effets létaux"** (SPEL), des **"seuils des effets irréversibles"** (SEI), des **"seuils des effets réversibles"** (SER) et un **"seuil de perception"** (SP) pour l'acide nitrique.

Ceci est l'objet du présent rapport élaboré par un groupe d'experts toxicologues qui, compte tenu des connaissances, a défini les seuils ci-dessous pour l'acide nitrique.

En préambule, il convient de souligner qu'en cas d'émission accidentelle de l'acide nitrique, la co-exposition à du NO₂ n'est pas exclue. **L'utilisation des seuils de toxicité du NO₂ doit être considérée dans des situations où la quantité de NO₂ est supposée importante (par exemple en situation d'incendie).**

◆ Seuils d'effets létaux significatifs

Compte tenu des caractéristiques physico-chimiques de l'acide nitrique (liquide très réactif), les émissions d'acide nitrique sont considérées comme un mélange d'aérosol et de gaz.

TEMPS (min)	SELS	
	mg/m ³	ppm
1	11939	4561
10	5542	2117
20	4398	1680
30	3842	1468
60	3050	1164
120	1525	583
240	762	291
480	381	146

◆ **Seuils des premiers effets létaux**

Compte tenu des caractéristiques physico-chimiques de l'acide nitrique (liquide très réactif), les émissions d'acide nitrique sont considérées comme un mélange d'aérosol et de gaz.

TEMPS (min)	SPEL	
	mg/m ³	ppm
1	8557	3269
10	3972	1517
20	3153	1204
30	2754	1052
60	2186	835
120	1093	418
240	546	209
480	273	104

◆ **Seuils d'effets irréversibles**

Compte tenu des caractéristiques physico-chimiques de l'acide nitrique (liquide très réactif), les émissions d'acide nitrique sont considérées comme un mélange d'aérosol et de gaz.

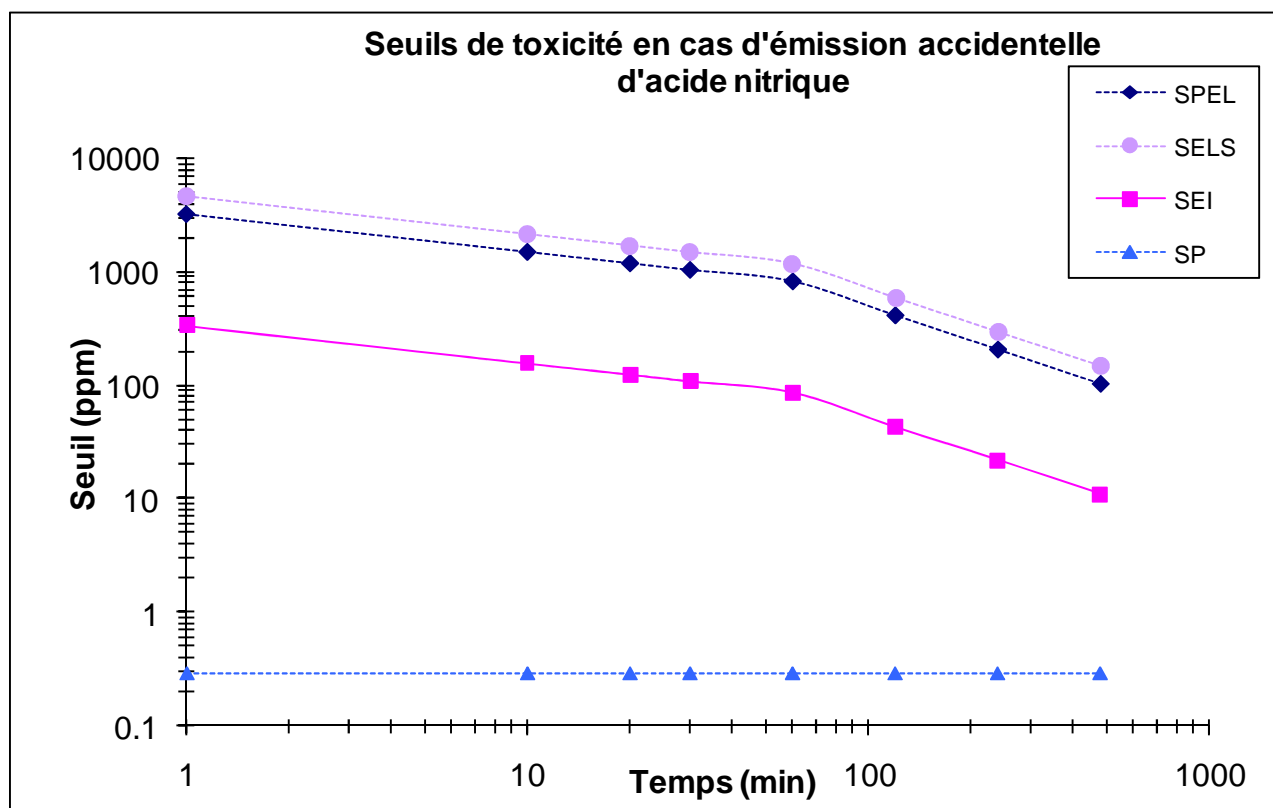
TEMPS (min)	SEI	
	mg/m ³	ppm
1	888	339
10	412	157
20	327	125
30	286	109
60	227	87
120	113	43
240	57	22
480	28	11

◆ **Seuils d'effets réversibles**

Les données de la littérature ne sont pas suffisantes pour déterminer des seuils des effets réversibles pour l'acide nitrique.

◆ **Seuil de perception**

Seuil olfactif : 0,29 ppm (0,75 mg/m³).



Grphe récapitulatif des seuils de toxicité aiguë

2. INTRODUCTION

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

Les définitions des seuils de toxicité ont été actées le 20 août 2003, au sein du groupe d'experts toxicologues composé de représentants et d'experts toxicologues du Ministère de l'Ecologie, du Développement et de l'Aménagement Durables et du Ministère de la Santé, de la Famille et des Personnes Handicapées, de l'INERIS, de l'INRS, de l'IRSN, de Centres Hospitalo-Universitaires et de l'Industrie et sont reprises dans la méthodologie révisée de décembre 2007.

Trois types d'effets toxiques ont été définis :

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

Les couples concentration - durée d'exposition associés à ces effets permettent de déterminer les seuils de toxicité aiguë que sont les "**seuils des effets létaux significatifs**" (SELS), les "**seuils des premiers effets létaux**" (SPEL), les "**seuils des effets irréversibles**" (SEI), les "**seuils des effets réversibles**" (SER) et le "**seuil de perception**" (SP).

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

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

Le ministère de l'Ecologie, de l'Energie, du Développement durable et de l'Aménagement du Territoire 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 nitrique.

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, révisée en décembre 2007 et consultable sur le site Internet de l'INERIS (www.ineris.fr).

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

Paramètre	Valeur/description	
Nom chimique	Acide Nitrique	
Numéro CAS	7697-37-2	
Numéro EINECS	231-714-2	
Formule chimique	HNO ₃	
Etat physique (température ambiante)	Liquide fumant incolore ou jaunâtre ¹	Lewis, 2004
Poids moléculaire	63,02 g.mol ⁻¹	Lewis, 2004
Tension de vapeur	3,5 kPa à 20°C 18 kPa à 50°C	INRS, 1997
Concentration de vapeur saturante à 20°C	90,5 g.m ⁻³ 34 571 ppm	Voir formule ¹
Densité vapeur (air=1)	1,50	Lewis, 2004
Solubilité (eau)	Soluble en toute proportion dans l'eau	INRS, 1997
Température d'ébullition	83°C ²	Lewis, 2004
Température de fusion	-42°C	Lewis, 2004
Limite d'explosivité	Limite inférieure : - Limite supérieure : -	-
Conversion	1 mg/m ³ = 0,382 ppm 1 ppm = 2,58 mg/m ³	AEGL, 2006

12

¹Calcul de la concentration de vapeur saturante à 20°C:

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

avec P (pression de vapeur) = 3,5 kPa

MM (masse molaire) = 63,02 g.mol⁻¹

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

T (température) = 293,15 K

¹ Le liquide pur incolore se décompose, particulièrement à la lumière. L'acide pur ne peut être stocké en présence de lumière sans formation de NO₂ qui est à l'origine de la coloration jaunâtre (Merck Index, 2006).

² Les solutions d'acide nitrique présentent un point d'ébullition supérieur à celui de l'acide pur. Il se forme en effet un azéotrope entre l'eau et l'acide nitrique (mélange de 2 liquides dont le point d'ébullition est supérieur à celui de chacun des deux composants séparés). Pour une solution à 70%, le point d'ébullition est de 120,5°C. .

L'acide nitrique anhydre est un liquide incolore fortement corrosif, d'odeur suffocante caractéristique, miscible à l'eau en toute proportion et plus dense que celle-ci. Avec l'humidité de l'air, il émet d'abondantes vapeurs blanches.

C'est un acide fort, un oxydant et un comburant ainsi qu'un agent de nitration. Les utilisations principales pour l'acide nitrique sont l'industrie des engrais (70%, engrais minéraux et organiques) et des explosifs (15%) (SFC, 2009). L'utilisation en synthèse organique comme agent de nitration notamment, en industrie métallurgique (gravure sur métaux, traitement des métaux ferreux), textile et pharmaceutique sont également rapportées (SFC, 2009 ; INRS, 1997 ; Merck Index, 2006).

En tant qu'agent énergétique d'oxydation et comburant, il est capable de donner lieu à des réactions violentes avec les matières combustibles ou réductrices. Il peut ainsi réagir avec de nombreux composés (organiques ou minéraux, bases fortes, métaux à l'exception des métaux nobles) et donner lieu à des phénomènes d'inflammation voire d'explosion. Ces réactions peuvent s'accompagner de dégagements toxiques d'oxydes d'azote (INRS, 1997 ; INERIS, 2000).

L'acide nitrique est commercialisé sous forme de solutions aqueuses dont les concentrations s'échelonnent de 58 à 99% en poids (INRS, 1997). Les solutions d'acide nitrique sont dites concentrées dès que la concentration atteint 70% (Merck Index, 2006).

Les solutions d'acide nitrique "fumant" correspondent à des solutions concentrées d'acide nitrique contenant du peroxyde d'azote (NO_2) dissous. L'acide nitrique fumant blanc (White fuming nitric acid, WFNA) est une solution à 97,5% d'acide nitrique contenant de 0,1 à 0,4% de concentrations en NO_2 dissous. L'acide fumant rouge (Red Fuming Nitric Acid, RFNA) est une solution en moyenne à 82,4-85,2% et contenant 14% en moyenne et jusqu'à 20% de NO_2 dissous. Ces solutions d'acide nitrique présentent des numéros CAS spécifiques (CAS N°52583-42-3 et 78989-43-2, respectivement), distincts de celui de l'acide nitrique. Les aspects liés à la présence de NO_2 et à l'exposition potentielle simultanée d'acide nitrique et de NO_2 sont détaillés au chapitre 4.

3. VALEURS OFFICIELLES EXISTANTES

En France, l'émission accidentelle d'acide nitrique n'a pas fait l'objet d'un examen et aucun seuil d'effets létaux ou irréversibles ne fait actuellement référence.

En outre, aux **Etats-Unis**, le comité **AEGLs** (Acute Exposure Guideline Levels) a publié au Federal Register de octobre 2006 les valeurs AEGLs de l'acide nitrique. Ces valeurs ont le statut de "interim" AEGLs Les définitions de ces valeurs AEGLs (en français - traduction par le comité AEGL) sont :

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

Les valeurs AEGLs pour l'acide nitrique sont les suivantes :

Durée (min)	10	30	60	240	480
AEGL-1 (ppm)	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53
AEGL-2 (ppm)	43	30	24	6,0	3,0
AEGL-3 (ppm)	170	120	92	23	11

De plus, l'**A.I.H.A.** (American Industrial Hygienist Association) publie des valeurs **E.R.P.G.** (Emergency Response Planning Guidelines) en cas d'émission de substances toxiques pour une exposition d'une heure.

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

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

- ✓ **ERPG-3** : concentration atmosphérique maximale en-dessous de laquelle il est probable que presque tous les individus pourraient être exposés pendant plus d'une heure sans ressentir ou développer d'effet menaçant sa vie.

Pour l'acide nitrique, les valeurs des E.R.P.G. (2008) sont :

- ✓ **E.R.P.G.-1** : 1 ppm
- ✓ **E.R.P.G.-2** : 6 ppm
- ✓ **E.R.P.G.-3** : 78 ppm

Par ailleurs, des valeurs s'apparentant aux ERPGs mais basées sur une méthodologie spécifique, sont également disponibles. Il s'agit des **TEELs** (Temporary Exposure Emergency Limits) définis par le Ministère des transports. Ils sont destinés à évaluer les effets sur une population générale en cas d'exposition accidentelle pour une durée de 60 minutes. Ils sont définis sans facteur de sécurité et caractérisés comme suivant :

- ✓ **TEEL-0** : seuil pour lequel il n'y a aucun risque appréciable pour la santé
- ✓ **TEEL-1** : seuil d'irritation et d'effets mineurs
- ✓ **TEEL-2** : seuil d'effets irritants et réversibles
- ✓ **TEEL-3** : seuil d'effets sérieux, effets létaux possibles.

Pour l'acide nitrique, ces seuils sont :

- ✓ **TEEL-0** : 0,53 ppm (1,37 mg/m³)
- ✓ **TEEL-1** : AEGL 1 pour 60 min (0,53 ppm)
- ✓ **TEEL-2** : AEGL 2 pour 60 min (24 ppm)
- ✓ **TEEL-3** : AEGL 3 pour 60 min (92 ppm)

Rappel : Il existe également une valeur seuil I.D.L.H. (1987) correspondant à un niveau d'exposition maximale en milieu professionnel pour une durée de 30 minutes n'entravant pas l'évacuation des individus, ni n'induisant d'effets nocifs irréversibles. Pour l'acide nitrique, cette valeur était initialement de 100 ppm mais a été révisée à 25 ppm en 1995.

Classement de l'acide nitrique (annexe I de la directive 67/548/CEE 19^{ème} ATP)

O, C

R8 : Favorise l'inflammation des matières combustibles

R35 : Provoque de graves brûlures.

Classement de l'acide nitrique (annexe VI du règlement CE 1272/2008 - CLP)

Ox. Liq. 3 ; Skin Corr. 1A

H272 : Peut aggraver un incendie; comburant.

H314 : Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.

4. ACIDE NITRIQUE ET FORMES CHIMIQUES ASSOCIEES LORS D'UNE EXPOSITION PAR INHALATION

La pertinence de l'élaboration d'un seuil de toxicité pour l'acide nitrique est à mettre en relation directe avec les formes chimiques associées auxquelles l'homme peut être exposé en situation accidentelle. En effet, toute exposition par inhalation d'acide nitrique doit être envisagée comme étant l'exposition simultanée à des vapeurs d'acide nitrique et d'oxydes d'azote, notamment de monoxyde d'azote NO et de dioxyde d'azote NO₂. Cette double exposition a été soulignée dès 1976 par l'institut NIOSH (NIOSH, 1976). Les éléments de causalité sont les suivants :

- Les produits nitreux dissous dans les solutions d'acide nitrique sont facilement libérés compte tenu de leur état naturel gazeux. Or, toute solution d'acide nitrique en contient en raison :
 - Du procédé de fabrication (Pascal, 1956). La production d'acide nitrique se fait par oxydation catalytique de l'ammoniac (NH₃) : le monoxyde d'azote (NO) obtenu est oxydé en NO₂, puis par absorption d'eau sous pression se forme l'acide nitrique (SFC, 2009)³.
 - De la décomposition spontanée en NO₂ en phase liquide
- L'acide nitrique se décompose de manière spontanée en NO₂ en phase gazeuse (Pascal, 1956 ; AEGL, 2006) ;
 - A noter que cette décomposition est accélérée en présence de lumière et/ou de chaleur. Ainsi, il faut souligner que si l'acide nitrique est impliqué dans un incendie, il est d'autant plus susceptible de se décomposer en donnant matière à un dégagement toxique d'oxydes d'azote (INERIS, 2000).
- La première des caractéristiques de l'acide nitrique est son pouvoir oxydant, le rendant très réactif avec tout matériau avec lequel il entre en contact (métaux, matière organique). L'acide nitrique est donc rapidement réduit, en NO₂ notamment (Pascal, 1956).

D'après la revue du NIOSH de 1976, la mesure des expositions professionnelles à l'acide nitrique a été limitée à celles des oxydes d'azote. Les différentes expositions accidentelles à l'acide nitrique chez l'homme mentionnent l'exposition à des oxydes d'azote (voir § 5.1).

Ainsi, il est difficile de dissocier les expositions NO₂/acide nitrique. Cependant, il faut souligner que l'acide nitrique est liquide alors que les oxydes d'azote sont gazeux. Par conséquent, une exposition à l'acide nitrique par inhalation est à envisager sous forme d'aérosol. Ainsi, même si la nature des vapeurs peut être une combinaison d'acide nitrique et de NO₂ (en proportions variables, la quantité de NO₂ n'étant pas quantifiable), voire seulement du NO₂ : **une exposition à l'acide nitrique doit être envisagée par la présence de gouttelettes d'acide nitrique sous forme d'aérosol.**

Lors de l'exposition simultanée à plusieurs substances, l'exposition globale peut être assimilée à celle du composé le plus toxique, afin de couvrir les effets potentiels de l'ensemble des substances impliquées dans l'exposition et ce dans la mesure où la quantification de chacune des expositions n'est pas disponible, Dans le cas acide nitrique et NO₂, les différences de toxicité sont discutées ci-après.

³ Procédé classique de fabrication qui conduit à des solutions d'acide nitrique à des concentrations ne dépassant pas les 70% en raison de l'azéotrope acide nitrique/eau. Le procédé de distillation permettant d'obtenir des solutions plus concentrées (99%) n'est pas pris en compte ici.

Les effets locaux liés à l'inhalation d'acide nitrique sont similaires avec ceux observés pour les oxydes d'azote. Le tableau clinique suivant une intoxication aiguë au dioxyde d'azote se caractérise par trois phases (Lauwerys, 1999):

- Irritation plus ou moins intense des muqueuses oculaires et respiratoires avec larmoiement, toux, dyspnée et nausées possibles. Cette phase d'irritation rétrocede rapidement dès la fin de l'exposition et peut passer inaperçue;
- Période de rémission plus ou moins asymptomatique de 6 à 24 heures;
- Développement d'un œdème pulmonaire associé à une détresse respiratoire, de la toux, une dyspnée et de la fièvre et pouvant être déclenché par un effort très léger tel que la marche.

S'il n'est pas fatal, l'épisode aigu peut évoluer vers la guérison totale ou être suivi par l'apparition d'une bronchiolite oblitérante entraînant des séquelles fonctionnelles importantes (liées à la fibrose ou l'emphysème).

Sur la base de valeurs de la CL_{50} déterminées chez le rat, il semblerait que le NO_2 soit plus toxique que l'acide nitrique, comme souligné par Dupont (1987) et dans le document AEGL (2006). Toutefois, l'exposition d'adultes asthmatiques à un maximum de 1 ppm ($1,88 \text{ mg/m}^3$) de NO_2 pendant 4 heures n'a engendré aucun effet néfaste sur la fonction pulmonaire (Sackner *et al.*, 1981) alors que l'acide nitrique a produit une légère diminution de la fonction pulmonaire chez les enfants asthmatiques exposés pendant 40 minutes à 0,05 ppm ($0,129 \text{ mg/m}^3$) (Koenig *et al.* 1989). Le groupe d'experts élaborant les valeurs AEGL, a ainsi élaboré des valeurs AEGL spécifiques pour l'acide nitrique⁴.

Toxicité et synergie

Des auteurs ont émis l'hypothèse que NO_2/HNO_3 pouvait interagir et provoquer une toxicité renforcée (Gray, 1954). Toutefois, les résultats expérimentaux, sans contredire cette hypothèse, ne permettent que de spéculer sur le mode d'action, Gray affirmant même que les résultats "conduisent à la conclusion que [...] le contenu acide des vapeurs joue un rôle très secondaire [dans la toxicité], pouvant peut-être prédisposer le tissu pulmonaire à l'action du NO_2 ". Lehmann et Hasagawa (1913), cités dans le document AEGL (2006), ont montré chez l'animal que, jusqu'à une concentration d'environ 272 ppm (700 mg/m^3), les effets toxiques étaient les mêmes lorsque le mélange de gaz contenait de l'acide nitrique seul ou un mélange d'azote et d'acide nitrique. La synergie des effets n'est pas démontrée et n'est donc pas retenue comme hypothèse.

Compte tenu des considérations exposées au paragraphe précédent sur les expositions, il n'est pas possible d'exclure la possibilité que la similitude des effets acide nitrique/ NO_2 ne soit due en partie à l'exposition simultanée acide nitrique et NO_2 . Il apparaît difficile de définir, d'après les données disponibles, lequel des composés est le plus toxique. De plus, il a également été souligné que les effets liés à une exposition au NO_2 pouvaient être liés à la formation de HNO_3 *in situ* (Mautz *et al.*, 1988 ; Goldstein *et al.*, 1977, cité dans Abraham *et al.*, 1982), rendant finalement les deux toxicités imbriquées.

En conclusion, l'élaboration de seuils spécifiques pour l'acide nitrique est apparue pertinente car l'exposition à l'acide nitrique sous forme d'aérosol est incontournable. La co-exposition à du NO_2 n'est pas exclue. Dans le cadre des expositions accidentelles à l'acide nitrique et de l'élaboration du seuil de toxicité aiguë, l'hypothèse retenue est de considérer une exposition à l'acide nitrique seule, cette hypothèse pouvant être ajustée en fonction des données disponibles sur la quantité de NO_2 estimé présent.

⁴ A noter cependant que ces valeurs AEGL sont supérieures à celles du NO_2 .

Dans des situations où la quantité de NO₂ est supposée importante, l'utilisation des seuils de toxicité du NO₂ doit être considérée (par exemple en situation d'incendie).

Par ailleurs, il est important de noter que dans les essais expérimentaux retenus pour l'élaboration de ces seuils, une attention particulière est portée sur un contrôle analytique rigoureux quant à l'absence d'oxydes d'azote, afin de déterminer les concentrations toxiques réelles d'acide nitrique.

Le cas du NO₂ venant d'être abordé, il est également nécessaire de considérer le cas du monoxyde d'azote. Des résultats expérimentaux indiquent que le NO₂ est beaucoup plus toxique pour les voies respiratoires que NO (AEGL, 2006), le NO étant rapporté comme 5 fois moins toxique que le NO₂ (Lauwerys, 1999). Le monoxyde d'azote est instable dans l'air et subit une oxydation spontanée et rapide en NO₂ (Lauwerys, 1999). Ainsi, la toxicité et l'exposition du NO n'ont pas été considérées pour l'élaboration des valeurs seuils de toxicité aiguë françaises de l'acide nitrique.

5. DONNEES DE TOXICITE CHEZ L'HOMME

La plupart des études montre que l'acide nitrique, lors d'exposition aiguë par inhalation, provoque une irritation immédiate du tractus respiratoire (toux, irritation de la gorge, dyspnée), parfois avec cyanose, suivie d'une période de rémission pouvant durer jusqu'à plusieurs semaines (2 à 3). Après cette période, les suites sont assez imprévisibles. Une récupération est possible mais elle être suivie par à une bronchopneumonie ; des séquelles respiratoires telles que bronchiolite oblitérante, fibrose pulmonaire sont à envisager. Une rechute avec œdème pulmonaire et mort sont possibles, dépendant de la concentration et de la durée d'exposition (NIOSH, 1976).

5.1 DONNEES EPIDEMIOCLINIQUES

- **Bur et al. (1997)**

Un homme de 56 ans a inhalé des vapeurs suite à une exposition à de l'acide nitrique en nettoyant, dans un bol, un lustre en cuivre au moyen d'une solution d'acide nitrique à 60%. Les concentrations auxquelles l'homme a été exposé ne sont pas connues. Les premiers signes de détresse respiratoire sont apparus après 30 minutes.

A l'arrivée aux urgences une heure plus tard, l'homme présentait une dyspnée au repos, un stridor expiratoire, une pâleur générale ainsi qu'une cyanose des extrémités. L'auscultation a révélé des râles pulmonaires bilatéraux et la première radiographie a mis en évidence un œdème pulmonaire. La situation respiratoire du patient s'aggravant malgré l'oxygénothérapie, une ventilation artificielle a été mise en place après 2 heures et un support d'oxygénation par membrane extracorporelle installé après 7 heures. A 20 heures, une bronchoscopie a révélé une sécrétion bronchique massive et de multiples lésions de la muqueuse, impliquant l'administration d'un surfactant. La fonction respiratoire du patient s'est alors améliorée dans les 30 minutes qui ont suivi (pH, PaCO₂, PaO₂) et le patient a été stabilisé : à J2, la radiographie montrait des améliorations et la situation respiratoire se stabilisait.

A J3, suite à des complications de l'oxygénation par membrane extracorporelle, une ischémie de la jambe droite est survenue et une dérivation artérielle depuis l'artère fémorale a été mise en place. Deux heures après, la fonction respiratoire s'est dégradée. Malgré la ventilation à faible dose de NO (30 ppm), le patient est décédé à J4 d'une insuffisance respiratoire.

L'analyse histopathologique a mis en évidence les signes d'un œdème pulmonaire mais sans modifications inflammatoires des voies aériennes profondes.

- ✓ **Hajela et al. (1990)**

Cette étude rapporte les cas de trois travailleurs de l'industrie exposés accidentellement aux vapeurs d'acide nitrique suite à l'explosion d'un réservoir contenant environ 1,736 litres d'acide nitrique à 68%. Les trois hommes (21, 36 et 44 ans) ont traversé accidentellement la zone de l'explosion où la poussière et les émanations de gaz ont été apparemment les plus importantes. Il leur a fallu environ 10 à 15 min pour s'échapper du bâtiment. Aucun signe ou problème respiratoire n'est apparu lorsqu'ils ont été examinés à la clinique locale mais quatre à six heures après, des difficultés respiratoires croissantes se sont développées et ils ont été transférés d'urgence à l'hôpital.

A l'admission, tous trois présentaient les signes d'un œdème pulmonaire (cyanose, mousse liquide s'échappant de la bouche et du nez). Une ventilation mécanique a été immédiatement mise en place mais les trois patients sont décédés en moins de 24

heures (13, 20 et 21 heures). L'autopsie a révélé, entre autres, une nécrose épithéliale des bronches, une hyperémie des capillaires alvéolaires ainsi qu'un léger œdème interstitiel des alvéoles.

✓ **Hall et Cooper (1905)**

Cette étude rapporte les cas de pompiers exposés lors d'un incendie lié à un déversement accidentel d'acide nitrique à 38% depuis une bonbonne de 38L brisée. L'acide renversé fut absorbé par de la sciure de bois, celle-ci s'est rapidement oxydée, provoquant l'incendie. Il convient de préciser que l'acide nitrique est entré en contact avec du zinc avant d'être absorbé par la sciure de bois. Vingt personnes (18 pompiers et 2 employés) ont été exposées et ont présenté dyspnée, céphalée, toux, douleurs multiples (gorge, poumon, estomac,...) ainsi que pour certains, des signes digestifs (nausée, vomissement), nécessitant une prise en charge médicale. En l'absence de signes sérieux, les patients sont rentrés chez eux mais en moins de 24 heures, 19 sur les 20 retournaient à l'hôpital. Deux personnes présentant les symptômes les plus sévères sont décédées le surlendemain de l'exposition. Deux personnes sont également décédées plusieurs semaines après (J22 et J30). L'autopsie a révélé une bronchopneumonie (œdème et nécrose). Pour les autres, les symptômes ont duré en moyenne 15 jours, ont régressé naturellement en 3 semaines mais la récupération fut complète après plus de 3 mois. Les concentrations d'exposition ne sont pas connues.

Les auteurs précisent que les fumées étaient composées d'acide nitrique mais également des produits de combustion à savoir les oxydes d'azote (NO₂) et autres produits de réaction, compte tenu de la présence de manière organique.

✓ **McAdams et Krop (1955)**

Cette étude rapporte deux accidents survenus en 1953 dans un laboratoire de chimie utilisant de l'acide nitrique fumant rouge.

Un chimiste de 28 ans a été aspergé par l'acide nitrique fumant liquide chaud (imprécision sur la température). A l'admission à l'hôpital, il présentait des brûlures du second et troisième degré. L'auscultation n'a montré aucun signe pulmonaire mais peu après une dyspnée s'est développée et la radiographie a montré un œdème. A J3, après traitement, les conditions se sont améliorées. A J6 la radiographie était normale. Le patient est demeuré hospitalisé pour les brûlures.

Son collègue de 38 ans venu lui porter secours a présenté une toux juste après l'exposition et a posé un congé maladie de 3 semaines. La sévérité de la toux et une fièvre l'ont conduit à consulter un médecin 23 jours après ; celui-ci n'a diagnostiqué que des râles de la poitrine. Les symptômes ont été rapidement et progressivement de plus en plus marqués. A J26, il a été hospitalisé avec toux, dyspnée, effort à la respiration et fièvre. Des râles de la poitrine ont été observés, la radiographie a mis en évidence des opacités diffuses et irrégulières. Le patient est décédé 30 heures après l'admission, à J27. L'autopsie a révélé une bronchiolite oblitérante et un œdème pulmonaire.

Les auteurs rapportent que le patient a été exposé aux oxydes d'azote.

• **Fraenkel (1902)** - Résumé (étude en allemand)

L'étude rapporte un cas fatal dans une fonderie de laiton. La victime, âgée de 28 ans a été exposée pendant une durée indéterminée en se penchant au-dessus du réservoir d'acide nitrique. Les symptômes se sont développés progressivement avec dyspnée,

inflammation pulmonaire, cyanose et expectorations rouges. La victime est décédée après 21 jours.

- **Schmid (1974)** – Résumé (étude en allemand)

Un conducteur de camion de 25 ans a succombé suite à l'inhalation de vapeurs d'acide nitrique en nettoyant de l'acide nitrique à 68% qui s'est renversé. Une dyspnée s'est développée 3 semaines après et l'homme a succombé après 4 jours. Une bronchiolite et une alvéolite oblitérante ont été observées.

- **Desgranges (1904)** – Etude non disponible, citée dans le dossier technique AEGL

Un revendeur est mort 25 heures après avoir été exposé par deux fois à des vapeurs d'acide nitrique pendant 20 minutes (intervalle de 35 minutes entre les deux expositions).

D'autres expositions fatales après inhalation d'acide nitrique chez les travailleurs sont rapportées (NIOSH, 1976). Les principaux symptômes sont une irritation immédiate du tractus respiratoire, dyspnée suivies d'une période de récupération pouvant durer jusqu'à plusieurs semaines. Après cette période, une rechute et la mort sont survenues suite à une fibrose pulmonaire et/ou une bronchopneumonie. Toutes les expositions à l'acide nitrique n'ont cependant pas été mortelles.

- **Myint et Lee (1983)**

Un homme de 42 ans sans antécédent de pathologie respiratoire, a été exposé pendant 3 heures à des vapeurs d'acide nitrique suite à la fuite d'un bidon. Les concentrations d'exposition ne sont pas connues. Douze heures après l'exposition l'homme a été hospitalisé pour des symptômes respiratoires tels que toux sèche, dyspnée, cyanose avec des crépitations pulmonaires. Les radiographies ont montré des opacités compatibles avec un oedème pulmonaire. Bien que traité par oxygénothérapie et corticothérapie, l'état s'est dégradé à J2. L'intubation a permis une amélioration : à J5 la radiographie montrait des signes d'amélioration, suivis à J10 de l'arrêt des crépitations pulmonaires. Trois mois plus tard, le patient était rétabli, les radiographies étaient à nouveau normales.

- **Camiel et Berkan (1944)**

Deux hospitalisations après exposition professionnelle à des fumées d'acide nitrique sont rapportées.

La première concerne un homme de 46 ans qui a procédé au mélange d'acide nitrique et d'acide chlorhydrique sans masque de protection pendant une demi-heure pour une entreprise de nettoyage de métaux. Les vapeurs n'ont causé aucun symptôme au moment de l'exposition mais une heure après il souffrait de détresse respiratoire (quintes de toux, douleur thoracique suivies de frissons et d'un état fébrile) et douze heures plus tard il se présentait aux urgences pour examen. Entre autres symptômes à l'admission il présentait cyanose, fièvre, dyspnée et râles pulmonaires. La radiographie a montré des zones étendues d'infiltration nodulaires suggérant une pneumoconiose. A J1 les signes respiratoires s'amélioraient mais le patient était désorienté. A J3, la radiographie montrait les mêmes signes qu'à J0. A J4 l'état s'est amélioré, la radiographie à J9 révélait une résorption des infiltrations et le patient a

récupéré à J17. Une radiographie effectuée 1 an après l'exposition n'a montré aucune séquelle.

La seconde hospitalisation fait référence à un assistant soudeur âgé de 49 ans exposé pendant 4,5 heures sans masque aux fumées de la soudure impliquant de l'acide nitrique et de l'acétylène. Se plaignant de vertiges et maux de tête depuis une journée, il est admis à l'hôpital la nuit qui a suivi l'exposition où sont observés toux non productive, état févreux, dyspnée et râles pulmonaires. La radiographie a mis en évidence des infiltrations pseudonodulaires compatibles avec une bronchiolite sévère. A J3, la toux et la dyspnée n'étaient plus présentes, la radiographie ne montrait plus que quelques infiltrations résiduelles ponctuelles. A J4 le patient rentrait chez lui. Un mois après, le cliché radiologique était à nouveau normal.

- **Lageze et al. (1959)**

Cette étude rapporte deux expositions professionnelles suite à la rupture de bonbonnes d'acide nitrique. L'acide s'est déversé sur des sacs contenant un mélange de carbonate de soude, de nitrites et de bioxyde d'azote. La concentration de l'acide et les concentrations d'exposition ne sont pas connues.

Le premier travailleur, âgé de 31 ans, a été exposé pendant 5 heures aux vapeurs. Le soir, il présentait une céphalée violente, une sensation d'oppression avec constriction thoracique et expectorations jaunâtres. A J1, les signes cliniques observés sont des râles bronchiques importants et des sibilances dans les deux champs pulmonaires. La radiographie a montré un aspect granuleux, de répartition irrégulière mais sur les deux lobes et avec des plages de confluence, correspondant à un sub-œdème pulmonaire. La dyspnée s'est accentuée les jours suivants, accompagnée de fièvre et sueurs, de toux et d'expectorations. A J21, après traitement à la cortisone, les signes radiologiques étaient résorbés mais pas les signes cliniques et fonctionnels. Le patient a été hospitalisé à J45 pour ces troubles et à sa sortie à J75, le patient souffrait toujours d'essoufflement à l'effort et d'asthénie.

Le second travailleur, âgé de 44 ans, a été exposé pendant 15 minutes. Aucun symptôme à l'exposition, à J1 une toux sèche presque incessante, une sensation d'oppression au repos, un essoufflement à l'effort, une respiration bruyante et des sibilances bronchiques sont observés. La radiographie montre un aspect granuleux du poumon droit, résorbé à J8.

- **Schussler (1935) – Résumé**

Un travailleur a été exposé accidentellement à des vapeurs d'acide nitrique et présentait toux, dyspnée et autres signes respiratoires. A J1 l'homme présentait une irritation des muqueuses, des brûlures cutanées, des désordres respiratoires et cardiovasculaires. Le patient a récupéré à J5.

- **Di Lorenzo et al., 1990 – Résumé**

Quatre travailleurs ont été exposés aux vapeurs d'acide nitrique après l'explosion d'un réservoir. Les signes cliniques ne sont pas rapportés dans l'abstract. Aucune modification des radiographies pulmonaires ou des tests de spirométrie n'a été observée pendant 2 mois après l'accident.

5.2 DONNEES EXPERIMENTALES CHEZ LES VOLONTAIRES SAINS

Le rapport AEGL (AEGL, 2006) présente les résumés des études de Diem (1907) et de Lehmann et Hasegawa (1913), publications anciennes qui ne seront pas reprises en détail et qui concernent l'exposition volontaire des auteurs.

L'étude de Diem rapporte que des vapeurs d'acide nitrique à 11,5-12,2 ppm (30-32 mg/m³) provoquent des effets irritants après 1 heure d'exposition tels que : irritation muqueuse nasale, oppression de la poitrine, toux, sécrétions nasale et salivaire, brûlures oculaires et larmoiement, brûlures de la peau et sensation de picotement cutané. Les symptômes ont régressé après 20 minutes mais certains comme l'écoulement nasal et la céphalée ont persisté 1 heure. Les vapeurs ont été générées par chauffage de l'acide et les concentrations en vapeurs mesurées par titration colorimétrique.

Dans l'étude de Lehmann et Hasegawa, l'auteur s'est exposé à des vapeurs d'oxydes d'azote par réaction d'acide nitrique avec du cuivre. Les concentrations d'exposition ont été rapportées en acide nitrique : 62 ppm (1 heure), entre 74 et 101 ppm (1 heure) suivi de 23-43 ppm pendant 1 heure et 158 ppm pendant 10 minutes. Une irritation du larynx accompagnée de soif a été rapportée à 62 ppm, une irritation et une toux après 40 minutes à 23-74 ppm et, à 158 ppm : toux, brûlures sévères du nez et de la gorge, larmoiement, sécrétions nasales, sensation de suffocation, céphalée, vertige, vomissement. Les effets ont entraîné l'arrêt de l'exposition. La concentration sans effet a été estimée comme inférieure à 50 ppm.

- **Aris et al. (1993)**

- ✓ **Nombre de volontaires** : 10 adultes athlétiques (21-39 ans, non fumeurs).
- ✓ **Conditions expérimentales**: L'acide nitrique a été généré sous forme de gaz par évaporation d'une solution à 23% d'acide nitrique au moyen d'une pompe à perfusion : celle-ci permettant l'arrivée de la solution dans un ballon chauffé à 200°C. Le gaz était ensuite distribué à la chambre d'exposition par un tube en téflon relié au ballon, après adjonction d'air comprimé.

Des tests de la fonction pulmonaire ont été réalisés : volume expiratoire maximal en une seconde (VEMS), capacité vitale forcée, résistance spécifique.

Un lavage bronchioalvéolaire (LBA) a été effectué 18 heures après l'exposition et le liquide prélevé (fraction proximale et fraction bronchique) a été analysé afin de rechercher des marqueurs de l'inflammation : protéines totales, fibronectine, albumine, α_1 -antitrypsine, lactate deshydrogénase, nombre de cellules, neutrophiles. Les analyses de la fraction bronchique du LBA n'ont pas été exploitées car la fraction proximale a été jugée plus représentative des événements survenant au niveau des voies aériennes. Les échantillons issus de biopsie ont été examinés pour une recherche de l'inflammation.

- ✓ **Concentrations d'exposition** : Concentration moyenne de 0,194 ppm (500 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) – Valeurs de concentration comprises entre 328 et 733 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ – Contrôle de la concentration pendant l'exposition à 10 et 40 minutes de chaque heure, par extraction d'air sur un filtre, élution et mesure par chromatographie liquide haute performance.
- ✓ **Temps d'exposition** : 4 heures – pratique d'un exercice modéré : vélo ou jogging ou les deux (taux de ventilation à 40L/min).
- ✓ **Temps d'observation**: -
- ✓ **Groupe témoin** : non

- ✓ **Résultats** : D'après les auteurs, il n'y a pas eu de modifications liées à l'exposition à HNO₃. Les résultats des tests de la fonction pulmonaire ont été similaires, aucune incidence significative sur les marqueurs biologiques de l'inflammation dans le LBA ou sur le nombre de neutrophiles (biopsies) n'a été rapportée. A noter toutefois que les gammes de valeurs obtenues pour chaque sujet ne sont pas fournies, les tableaux comparatifs ne présentant que les moyennes.

- **Koenig et al. (1989)**

Etude préliminaire concernant les effets sur la santé de 3 polluants atmosphériques : acide sulfurique, acide nitrique, dioxyde de soufre. Les détails concernant l'acide nitrique sont rapportés ci-dessous.

- ✓ **Nombre de volontaires** : 9 adolescents, 6 hommes et 3 femmes, âgés de 12 à 18 ans, présentant un bronchospasme lors d'un exercice. Seuls huit sujets ont été exposés à l'acide nitrique.

Le bronchospasme a été défini comme une diminution supérieure à 15% du volume expiratoire maximal en une seconde (VEMS) après un exercice de 6 minutes et avec une consommation d'oxygène maximale de 85%. Cinq sujets étaient par ailleurs atopiques.

- ✓ **Conditions expérimentales**: Tous les sujets ont été exposés au moyen d'embouts en caoutchouc aux 5 atmosphères avec un délai d'une semaine minimum entre chaque exposition (air filtré, acide nitrique, acide sulfurique, dioxyde de soufre, mélange d'acide sulfurique et d'oxyde de soufre).

Les vapeurs d'acide nitrique ont été générées au moyen d'un flux d'air contrôlé passé au dessus d'une solution d'acide nitrique (solution de pureté "qualité réactif"). La concentration en acide nitrique a été déterminée au niveau de l'embout de caoutchouc du sujet au moyen d'un analyseur à chimiluminescence. Le principe de la technique d'analyse consiste à scinder le flux d'air en deux, les deux flux sont connectés à un convertisseur au molybdène pour être réduit en NOx mais une partie du flux est préalablement dirigée vers une cartouche filtre en nylon. Le filtre de nylon permet d'absorber l'acide nitrique sans interférer sur les NOx.

Les tests de la fonction pulmonaire ont été menés avant et après exposition : résistance pulmonaire totale, capacité résiduelle fonctionnelle (CRF), flux maximal, volume expiratoire maximal en une seconde (VEMS)

A la fin de chaque exposition, ou le lendemain, un questionnaire a été distribué aux sujets afin qu'ils attribuent une note sur les signes cliniques suivants : toux, essoufflement, douleur ou brûlure dans la poitrine, fatigue, céphalée, goût ou odeur inhabituels, mal de gorge, écoulement nasal, sifflements.

- ✓ **Concentrations d'exposition** : 49,4 ppb ou 0,05 ppm (0,129 mg/m³)
- ✓ **Temps d'exposition** : 40 minutes : 30 min au repos et 10 minutes en exercice sur un tapis roulant
- ✓ **Temps d'observation**: -
- ✓ **Groupe témoin** : non, chaque individu est son propre témoin grâce aux mesures effectuées avant chaque exposition
- ✓ **Résultats** : Aucune modification des signes cliniques, aucune détresse respiratoire d'après les questionnaires.

Des modifications physiologiques au cours des tests ont été observées comme suit : diminution de 4% du VEMS et augmentation de 23% de la résistance pulmonaire totale. Après exposition à l'air, la diminution du VEMS était de 2% et l'augmentation de la résistance pulmonaire totale était de 7% (modifications non statistiquement significatives).

- **Becker et al. (1992)** – Résumé

L'objectif de l'étude est l'impact de l'inflammation des voies aériennes et du risque d'infection.

- ✓ **Nombre de volontaires** : 9 personnes non fumeuses âgées de 18 à 35 ans et en bonne santé.
- ✓ **Conditions expérimentales**: Le résumé rapporte que les volontaires ont été exposés à de l'acide nitrique (forme non précisée) puis à de l'air filtré.

La fonction pulmonaire a été explorée par spirométrie et par mesure de résistance spécifique des voies aériennes, les mesures ayant été effectuées avant et après exposition. Un lavage bronchioalvéolaire a été effectué 18 heures après l'exposition et le liquide prélevé analysé afin de rechercher des marqueurs de l'inflammation : concentration en protéines, en α_1 -antitrypsine, leucotriènes,...

- ✓ **Concentrations d'exposition** : 0,08 ppm (200 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)
- ✓ **Temps d'exposition** : 2 heures - incluant une période de 100 minutes au cours de laquelle les sujets sont soumis à un exercice modéré.
- ✓ **Temps d'observation**: -
- ✓ **Groupe témoin** : non
- ✓ **Résultats** : Aucune modification des paramètres de la fonction pulmonaire. Aucune incidence sur les marqueurs biologiques de l'inflammation dans le LBA.

Par ailleurs, les essais menés sur les macrophages alvéolaires ont montré une augmentation significative de l'activité phagocytaire (*Candida albicans*) et de la résistance à l'infection par le virus respiratoire syncytial.

- **Sackner & Ford (1981)** – Résumé

Les auteurs ont étudié les effets d'une exposition de 10 minutes à des aérosols de sels de nitrate (ammonium, sodium) sur la fonction pulmonaire d'adultes asthmatiques et non asthmatiques. Les sujets ont été observés sur une période d'une heure après l'exposition, les paramètres évaluant la fonction pulmonaire étaient le volume expiratoire maximum en une seconde, la capacité vitale ainsi que la résistance pulmonaire totale.

Dans cette étude sont également présentés les résultats préliminaires de l'exposition de 5 adultes non asthmatiques aux vapeurs d'acide nitrique.

- ✓ **Nombre de volontaires** : 5 adultes
- ✓ **Conditions expérimentales** : évaluation de la fonction pulmonaire : volume expiratoire maximum en une seconde, capacité vitale ainsi que résistance pulmonaire totale.
- ✓ **Concentrations d'exposition** : 1,6 ppm
- ✓ **Temps d'exposition** : 10 minutes

- ✓ **Temps d'observation:** 1 heure
- ✓ **Groupe témoin :** non
- ✓ **Résultats :** Pas d'altération de la fonction pulmonaire.

- **Ruth JH (1986)**

Cette revue bibliographique indique un seuil d'odeur absolu (reconnaisable par une personne) de $0,75 \text{ mg/m}^3$ (0,291 ppm) et un seuil d'odeur haut (reconnaisable par l'ensemble des personnes) de $2,5 \text{ mg/m}^3$ (0,97 ppm).

Il convient de noter que l'auteur rapporte un seuil irritant pour l'acide nitrique de 155 mg/m^3 (60 ppm) mais aucune référence n'est citée.

6. DONNEES DE TOXICITE CHEZ L'ANIMAL

6.1 ETUDE DES EFFETS LETAUX

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

6.1.1 CHEZ LES RONGEURS : RAT, SOURIS ET COBAYES

- **Dupont (1987) - Cotation 2** (étude bien documentée et en accord avec les principes scientifiques, acceptable pour l'évaluation)

✓ **Espèce étudiée** : rat Crl :CD@BR

✓ **Conditions expérimentales** : Les atmosphères d'acide nitrique ont été générées par nébulisation à partir d'une solution de pureté 70,76%, contenant un maximum de 0,1% de NOx. Cette technique, qui évite le chauffage, a pour objectif de prévenir la survenue de réactions d'oxydation ou de réduction. Différents équipements ont été utilisés en fonction des concentrations à obtenir. L'acide nitrique a été ainsi généré sous forme de vapeurs et d'aérosols. Le pourcentage sous forme d'aérosol, aux concentrations auxquelles il a été mesuré, était compris entre 15 et 73%. Aux trois plus fortes concentrations, le pourcentage n'a pas été mesuré mais estimé à 100%.

Les tailles des particules ont été mesurées pour les concentrations à partir de 1300 ppm et ont permis de déterminer un pourcentage de particules respirables (diamètre < 10 µm) de 59 à 74%.

Les concentrations en acide nitrique (quantification de l'ion nitrate après condensation des vapeurs en solutions), ainsi que celles de NO₂, ont été mesurées toutes les 20 minutes au cours de l'exposition afin de vérifier la stabilité du système.

Les rats ont été exposés par inhalation en nose-only. Une autopsie et un examen macroscopique ont été menés chez tous les animaux exposés.

✓ **Concentrations d'exposition** :

Moyenne (ppm)	% aérosol	Particules	
		Diamètre (µm)	% Respirable
260	15%	NM	NM
470	NM	NM	NM
1300	73%	4,0	70%
1500	13%	3,2	72%
1600	32%	3,3	71%
2500	NM	6,5	59%
2700	NM	6,6	61%
3100	NM	2,0	74%

NM : Non mesuré

✓ **Temps d'exposition** : 1 heure

- ✓ **Temps d'observation** : 14 jours
- ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 10 (5 mâles/5 femelles)
- ✓ **Lot témoin** : non
- ✓ **Résultats** : Le système a été stable au cours de l'expérience, le NO₂ n'a pas été détecté.

Les signes cliniques observés au cours de l'exposition ont été : écoulement nasal, diminution ou absence de réponse au son, fermeture partielle des yeux à partir de 1300 ppm, halètement à partir de 1600 ppm, léthargie à 3100 ppm. Une coloration jaune de la zone d'exposition (nez, face, occasionnellement le pavillon de l'oreille) ont été rapportés. Des lésions cutanées plus sévères ont aussi été observées (allant de l'alopecie à l'ulcération de la zone d'exposition, essentiellement chez les rats ayant survécu après la période d'observation des 14 jours. Pendant la période d'observation, les signes cliniques ont persisté voire se sont accentués : écoulements nasal et oral, têtes jaunies, brûlures des extrémités (face, pattes, yeux,...) et difficultés à respirer. A également été rapportée alors une diminution temporaire de poids corporel : modérée pendant 2 jours à 260 et 470 ppm et significative (jusqu'à 29%) pendant 12 jours à 1500 ppm chez les mâles et 1600 ppm chez les femelles. Aucune lésion macroscopique n'a été observée sur la muqueuse nasale. L'ensemble de ces observations a été attribué au caractère corrosif de l'acide nitrique, aucun effet n'a été corrélé à une toxicité systémique.

La mort est majoritairement survenue pendant la période d'observation : 2 jours en général et jusqu'à 8 jours après l'exposition. En cours d'exposition, 2 morts sont survenues à 1600 ppm et 1 mort à 2700 ppm. L'incidence de mortalité observée et les pourcentages de mortalité sont repris dans le tableau ci-dessous. Bien que la mortalité soit survenue chez les mâles à des doses plus faibles que chez les femelles, il n'y a pas eu de différences attribuées au sexe d'après les auteurs. Les résultats montrent une relation dose-réponse. La CL₅₀ a été déterminée à 2500 ppm pour les 2 sexes cumulés (2200 ppm pour les mâles et 2800 ppm pour les femelles).

Concentration (ppm)	Incidence de mortalité (mâles)	Incidence de mortalité (femelles)	Mortalité (%)	Nb de rats exposés
260	0/5	0/5	0	10
470	0/5	0/5	0	10
1300	1/5	0/5	10	10
1500	1/5	0/5	10	10
1600	2/5	0/5	20	10
2500	2/5	1/5	30	10
2700	2/5	1/5	30	10
3100	5/5	5/5	100	10

Les auteurs ont souligné une différence d'un facteur 20 avec de précédentes valeurs de CL₅₀ comme celle déterminée dans l'étude de Gray *et al.* (1954). Cette différence a été attribuée à une différence d'analyse : la méthode analytique utilisée ici a permis de

déterminer la concentration réelle en acide nitrique alors que dans les précédentes, l'acide nitrique était analysé ou exprimé sous forme de NO₂.

- **Gray et al. (1954) – Cotation 3** (Insuffisant pour l'évaluation : peu de données sur le protocole et notamment les concentrations d'exposition ; résultats présentés partiellement)

Les auteurs ont étudié la toxicité des oxydes d'azote, après exposition à du NO₂ ou à de l'acide nitrique.

- ✓ **Espèce étudiée** : rat albinos mâle
 - ✓ **Conditions expérimentales**: exposition à des vapeurs d'acide nitrique fumant rouge (Red Fuming Nitric Acid ou RFNA) contenant 8 à 17% de NO₂ dissous et à de l'acide nitrique fumant blanc (White Fuming Nitric Acid ou WFNA) contenant 0,1 à 0,4% de NO₂ dissous.
- Les concentrations en acide nitrique ont été déterminées par mesure du NO₂.
- Les rats ont été exposés corps entier en chambre d'exposition. Un examen macroscopique et une autopsie ont été menés chez tous les animaux exposés.
- ✓ **Concentrations d'exposition** : pas de données, seulement des courbes sont présentées.
 - ✓ **Temps d'exposition** : 30 et 240 min pour le RFNA et 30 min pour le WFNA.
 - ✓ **Temps d'observation** : -
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 10 rats mâles par lot pour le RFNA et 5 pour le WFNA.
 - ✓ **Lot témoin** : non
 - ✓ **Résultats** : Les résultats montrent une relation dose-réponse. La CL₅₀ après 30 minutes d'exposition a été déterminée à 138 ppm pour le RFNA et 244 ppm pour le WFNA. Après 240 minutes, la CL₅₀ a été déterminée à 67 ppm pour le RFNA.

Les morts ont été attribuées à un œdème pulmonaire.

Les courbes de relations dose-réponse du RFNA (30 min) et du NO₂ sont statistiquement parallèle (pas le WFNA), suggérant un même mécanisme d'action pour les deux gaz, ce qui n'est pas observé pour le RFNA (240 min) ni le WFNA. La toxicité a été attribuée au NO₂ par les auteurs. Le WFNA a été moins toxique que le RFNA ou le NO₂.

- Autres données de CL₅₀ :
 - ✓ CL₅₀ : 100 ppm après 30 minutes et 50 ppm après 4 heures et 919 ppm après 1 heure (RTECS, 2008)
 - ✓ CL₅₀ chez le rat : 310 à 334 ppm après 30 minutes (INRS, 1997)
 - ✓ CL₅₀ acide nitrique fumant rouge : 67 ppm chez la souris après 4H (HSDB, 2008)

6.1.2 CHEZ LE LAPIN

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

6.1.3 CHEZ LE CHIEN

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

6.1.4 CHEZ LE CHAT

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

- La base de données RTECS indique pour le chat les données suivantes :
 - ✓ CL₅₀ :194 ppm (temps non indiqué)

Le rapport AEGL (2006) présente un résumé de l'étude de **Lehmann et Hasegawa, (1913)**, publication ancienne et en littérature étrangère qui ne sera pas reprise en détail. Cette étude rapporte une mortalité par œdème pulmonaire chez un chat exposé à 341 ppm pendant 3 heures et 8 minutes (équivalent à 301 ppm pendant une heure). Aucune mortalité n'a été mise en évidence à 287 ppm pendant 1 heure ou 50 minutes (équivalent à 526 ppm pendant une heure). Un seul animal était exposé. Les auteurs ont émis l'hypothèse que la concentration en acide pouvait être à l'origine des différences d'effet (concentration induisant des effets corrosifs et l'œdème).

6.1.5 CHEZ LES PRIMATES NON HUMAINS

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

6.2 ETUDE DES EFFETS NON LETAUX

6.2.1 CHEZ LES RONGEURS : RAT, SOURIS ET COBAYES

Très peu de données sont disponibles. **Diggle and Cage (1954)** ont rapporté qu'une exposition unique à une concentration de 63 mg/m³ (24,4 ppm) n'avait aucun effet chez le rat. Il n'y a pas plus d'explication sur les conditions ou la durée d'exposition.

- **Dupont (1987) - Cotation 2** (étude bien documentée et en accord avec les principes scientifiques, acceptable pour l'évaluation)
- **Espèce étudiée** : rat Crl :CD@BR
 - ✓ **Conditions expérimentales** : voir paragraphe 6.1.1.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 260, 470, 1300, 1500, 1600, 2500, 2700, 3100 ppm
 - ✓ **Temps d'exposition** : 1 heure
 - ✓ **Temps d'observation** : 14 jours
 - ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 10 (5 mâles/5 femelles)
 - ✓ **Lot témoin** : non

- ✓ **Résultats** : Le système a été stable au cours de l'expérience, le NO₂ n'a pas été détecté. Les signes cliniques ont été observés comme suit :
 - Chez tous les lots exposés, une coloration jaune de la face.
 - Diminution temporaire modérée du poids corporel pendant 2 jours à 260 et 470 ppm
 - A 1300 ppm et au-delà, fermeture partielle des yeux
 - A 1500 ppm et au-delà, diminution ou absence de réponse au son ; chez les mâles, diminution du poids corporel temporaire significative (jusqu'à 29%) pendant 12 jours
 - A 1600 ppm et au-delà, halètement et chez les femelles, diminution temporaire du poids corporel significative (jusqu'à 29%) pendant 12 jours ;
 - A 3100 ppm, léthargie

Des lésions cutanées plus sévères ont aussi été observées (allant de l'alopecie à l'ulcération au niveau de la zone d'exposition : nez, face, occasionnellement le pavillon de l'oreille), essentiellement chez les rats ayant survécu après la période d'observation des 14 jours. L'ulcération au niveau nasal a été observée à toutes les concentrations dès 260 ppm. Aucune lésion macroscopique n'a été observée sur la muqueuse nasale. L'ensemble de ces observations a été attribué au caractère corrosif de l'acide nitrique, aucun effet n'a été corrélé à une toxicité systémique.

- **Nadziejko *et al.* (1992) - Cotation 3** (Objectif de l'étude éloigné des protocoles standards)

- ✓ **Espèce étudiée** : rat Fischer
- ✓ **Conditions expérimentales** : Rats exposés en nose-only. Les vapeurs d'acide nitrique ont été obtenues par nébulisation d'une solution d'acide nitrique suivie d'une dilution des gouttelettes générées dans de l'air purifié afin de n'obtenir que des vapeurs, lesquelles ont été injectées dans les chambres d'exposition. Les concentrations et l'absence d'aérosol ont été vérifiées 2 fois au cours des expositions. Un examen sérologique et histologique (poumon) a été effectué chez tous les animaux, à 18 heures ainsi qu'un lot après 2 heures : pH, PCO₂, contenu en cellules (nature, nombre) et en protéines, pH intracellulaire et activité des macrophages, production de leucotriènes, capacité à inhiber l'élastase.
- ✓ **Concentrations d'exposition** : 1 mg/m³ soit 0,38 ppm ou 0,25 mg/m³ soit 0,10 ppm.
- ✓ **Temps d'exposition** : 4 heures en exposition unique (1 mg/m³ - 0,38 ppm) et 4 heures/jour pendant 4 jours (0,25 mg/m³ - 0,10 ppm).
- ✓ **Temps d'observation** : Sacrifice 2 ou 18 heures après exposition.
- ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : Rats mâles. Nombre inconnu
- ✓ **Lot témoin** : oui, exposition à l'air.
- ✓ **Résultats** : Après exposition 4 jours (0,10 ppm), diminution de l'activité des macrophages (susceptibilité à des infections) mais pas après exposition unique à 1 mg/m³ (0,38 ppm). Après exposition unique et exposition 4 jours, augmentation de la capacité à inhiber l'élastase mais la cause n'est pas connue et n'est

apparemment pas reliée à une diminution de perméabilité de la membrane pulmonaire (aucune modification du nombre de protéines associée).

- **Mautz et al. (1988)** – Exposition (nose-only) de rats SD (4 à 5 rats/lot, témoins exposés à l'air) au repos ou en exercice modéré à du NO₂ et de l'ozone (séparément et simultanément), pendant 3 heures. Le mélange ozone et NO₂ a engendré la formation de vapeurs de HNO₃. Or, lors de la co-exposition entre ozone et NO₂, une synergie des effets a été observée. Les auteurs ont suggéré d'après ces observations que la formation de HNO₃ peut être responsable de la toxicité observée.

6.2.2 CHEZ LE LAPIN

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

6.2.3 CHEZ LE CHIEN

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

6.2.4 CHEZ LE CHAT

- La base de données RTECS indique pour le chat les données suivantes :
 - ✓ Œdème pulmonaire à 116 ppm après 2 heures d'exposition

6.2.5 CHEZ LE MOUTON

- **Abraham et al (1982) - Cotation 2** (l'étude est bien documentée et en accord avec les principes scientifiques, acceptable pour l'évaluation)
 - ✓ **Espèce étudiée** : mouton
 - ✓ **Conditions expérimentales**: Les atmosphères d'acide nitrique ont été générées par nébulisation à partir d'une solution à 2% et par mélange des gouttelettes obtenues avec un grand volume d'air afin d'obtenir des vapeurs. Les concentrations en vapeur d'acide nitrique ont été mesurées régulièrement pendant la période d'exposition (toutes les heures).

Les animaux ont été exposés aux vapeurs d'acide nitrique (exposition de la tête au moyen d'une hotte en plexiglas). Un test de provocation bronchique non spécifique au carbachol a été réalisé immédiatement et 24 heures après l'exposition à l'acide nitrique.
 - ✓ **Concentrations d'exposition** : 1,6 ppm
 - ✓ **Temps d'exposition** : 4 heures
 - ✓ **Temps d'observation** : 24 heures

- ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 7, deux lots (allergique/non allergique). L'allergie a été provoquée par inhalation du champignon *Ascaris* et a été définie par l'obtention d'un bronchospasme.
- ✓ **Lot témoin** : non
- ✓ **Résultats** : Aucune broncho-constriction observée. Chez les deux lots, une diminution de la résistance pulmonaire spécifique a été observée immédiatement après l'exposition, mais pas après 24 heures. En outre, alors que la réaction au carbachol a été constante chez les animaux non allergiques, chez les animaux allergiques, la réaction au carbachol a été augmentée après exposition au HNO₃.

6.2.6 CHEZ LES PRIMATES NON HUMAINS

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

6.3 ETUDES DES DONNEES ISSUES D'AUTRES VOIES D'EXPOSITION

6.3.1 CHEZ LES RONGEURS : RAT, SOURIS ET COBAYES

Plusieurs études conduites par voie intratrachéale ont permis d'identifier des altérations pulmonaires histologiques liées à l'acide nitrique. Ces études sont rapportées ici car elles apportent des indications sur les effets irréversibles liés à l'acide nitrique.

- **Gardiner et Schanker** (1976) ont étudié les effets d'une instillation intratrachéale unique de 0,15 mL d'une solution d'acide nitrique diluée (1%) chez le rat. Le poids des poumons n'a pas été modifié, indiquant notamment l'absence d'œdème. Les analyses histologiques menées entre 1 et 4 jours après traitement ont montré que l'acide nitrique provoquait des inflammations pulmonaires locales : bronchiolite et alvéolite. Ces résultats sont en accord avec les résultats de Greenberg *et al.* (1971) où, dans les mêmes conditions d'exposition, une altération de l'épithélium alvéolaire a été rapportée.
- **Christensen *et al.*** (1988) ont étudié les effets d'une instillation intratrachéale unique de 0,5 mL d'une solution d'acide nitrique à 0,08 N (0,15M) chez le hamster mâle. Les analyses histologiques ont été conduites après 3 semaines : une fibrose interstitielle (zone péribronchique et tissus adjacents, étendue variable selon les animaux) a été observée. Une métaplasie légère à sévère des cellules sécrétrices de l'épithélium, un affaissement des bronchioles, ainsi que des images de fibrose alvéolaire mais aucune ulcération ou nécrose n'ont été observées. Dans une expérience similaire avec exposition à 0,1 N d'acide nitrique (0,15M après adjonction de NaCl) et examen après 3, 7 et 17 semaines, les mêmes résultats sont rapportés, suggérant ainsi des effets irréversibles puisque aucune régression n'a été observée après 17 semaines.
- **Coalson et Collins** (1985) : Chez le hamster, 60 jours après une instillation d'une solution à 0,5% d'acide nitrique (0,5mL/100g de poids corporel), bronchite et bronchiolite, bronchiolite oblitérante ainsi qu'une dilatation des bronches et bronchioles

ont été rapportées. Des modifications du volume et du poids du poumon ont aussi été rapportés (mais pas de modification des poids corporels).

- **Blenkinsopp (1968)**

Les auteurs rapportent qu'après une instillation intratrachéale (0,1 mL) d'une solution à 1% chez 48 rats, 12 rats sont morts et les autres sacrifiés entre 1 heure et J64. Une inflammation des bronchioles et des alvéoles conduisant à une fibrose ont été rapportées.

6.3.2 CHEZ LE CHIEN

Mink et al. (1984) ont procédé à deux instillations intratrachéales d'une solution d'acide nitrique à 1% chez 8 chiens, à 14 jours d'intervalle. Chaque instillation a été fractionnée en aliquots répartis dans chaque lobe pulmonaire. Les chiens ont été ensuite hyperventilés pendant 30 minutes. Une toux et une hémoptysie ont été rapportées lors de l'exposition. Des tests de fonction pulmonaire ont été effectués et n'ont pas été modifiés malgré la présence d'une bronchiolite oblitérante.

7. ANALYSE DES DONNEES DE TOXICITE

7.1.1 ANALYSE DES DONNEES DE MORTALITE

7.1.2 ETUDES QUALITATIVES

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

- ✓ Dupont, 1987 – cotation 2.

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

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

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

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

- B : le nombre de lot d'animaux (ou d'individus)
- C_i : la concentration d'exposition des animaux du lot i
- b_i : le nombre d'animaux (ou d'individus) dans le lot i et exposés à la concentration C_i
- y_i : le nombre d'animaux (ou d'individus) affectés par le traitement parmi les n_i exposés à la concentration C_i
- τ_i : le temps d'exposition du lot i .

Sachant qu'un seul temps d'exposition est disponible, le logiciel probit permet d'obtenir une estimation de la valeur des CL₅₀, CL₀₅ et CL₀₁ pour ce temps d'exposition. Les valeurs sont données en annexe.

L'analyse été effectuée à l'aide d'une part du modèle Probit PKPD et d'autre part du modèle Probit standard couplée avec la loi de Haber en choisissant « n » = 1 pour l'extrapolation aux durées d'exposition plus longues, et « n » = 3 pour l'extrapolation aux plus courtes durées d'exposition, d'après la méthodologie française.

Le modèle PKPD, contrairement au modèle probit classique, tient compte de la physiologie respiratoire et est basé sur une dose toxique inhalée. La description de ce modèle est disponible sur le site de l'INERIS suivant : <http://toxi.ineris.fr/>

Le calcul des CL₅₀, CL₀₅ et CL₀₁ en fonction du temps d'exposition, est basé sur l'estimation des paramètres de régression (m , μ et σ) ainsi obtenus par une analyse bayésienne. Les intervalles de confiance sont déterminés sous l'hypothèse d'une fonction de vraisemblance binomiale [FINNEY (1971)]. L'annexe 4 donne les résultats obtenus par le logiciel standard-probit.

Nous pouvons alors écrire :

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

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

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

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

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

L'équation probit établie pour l'étude de Dupont (1987) est la suivante :

$$Y = 2,058 \ln(\text{concentration}) - 16,171$$

Y est une fonction de l'équation probit.

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

7.1.4 ANALYSE DES EFFETS NON LETAUX

7.1.4.1 SYNTHÈSE DES EFFETS NON LETAUX CHEZ L'HOMME

Concentration (ppm)	Durée	Effet	Etude
62	60 minutes	Irritation	Lehmann et Hasegawa (1913)
60	ND	Irritation	Ruth (1986)
11,5-12,2	60 minutes	Irritation	Diem (1907)
0,05	40 minutes	Pas de signes cliniques Modifications fonctionnelles (Adolescents asthmatiques)	Koenig <i>et al.</i> (1989)
1,6	10 minutes	Pas d'effet fonctionnel (Adulte sain)	Sackner et Ford (1981)
0,19 (moyenne) Max à 0,28	240 minutes	Pas d'effet fonctionnel (Adulte sain sportif)	Aris <i>et al.</i> (1993)
0,08	120 minutes	Pas d'effet fonctionnel (Adulte sain ou asthmatique)	Becker <i>et al.</i> (1992)
0,05	40 minutes	Pas de signes cliniques (Adolescent asthmatique)	Koenig <i>et al.</i> (1989)

7.1.4.2 SYNTHÈSE DES EFFETS NON LETAUX CHEZ L'ANIMAL

Concentration (ppm)	Durée	Effet	Espèce	Etude
260	60 minutes	Diminution réversible du poids corporel	Rat	Dupont (1987)
260 ppm	60 minutes	Lésions ulcératives	Rat	Dupont (1987)
1,6	4 heures	Diminution de la résistance pulmonaire spécifique réversible en 24h	Mouton	Abraham (1982)
1,6	4 heures	Hyperréactivité bronchique chez les allergiques	Mouton	Abraham (1982)

Des données par instillation sont aussi disponibles (études non cotées selon les critères de Klimisch, fournies à titre indicatif).

Concentration de la solution	Volume	Effet	Espèce	Etude
1%	0,15 mL	Bronchiolite et alvéolite	Rat	Gardiner et Schanker (1976)
0,08N (0,15M)	0,5 mL	Fibrose interstitielle	Rat	Christensen <i>et al.</i> (1987)
0,5%	0,5mL/100g de poids corporel	Bronchiolite oblitérante	Hamster	Coalson et Collins (1985)
1%	0,1 mL	Fibrose des bronchioles et alvéoles	Rat	Blenkinsopp (1968)
1%	15 mL/ lobe pulmonaire/ instillation (2 instillations)	Bronchiolite oblitérante	Chien	Mink <i>et al.</i> (1984)

8. REVUE DES RESULTATS

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

Les données disponibles chez l'homme et l'animal permettent de constater que les effets toxiques de cette substance sont semblables. L'acide nitrique possède une toxicité locale : il est un puissant irritant des voies respiratoires et peut causer des œdèmes pulmonaires. Les cinétiques de pénétration par voie pulmonaire ne sont probablement pas très différentes puisque l'acide nitrique réagit très rapidement au niveau du site d'exposition.

L'ensemble de ces éléments permet donc l'extrapolation des données animales à l'homme. De plus, l'acide nitrique ayant une toxicité locale, il n'est pas retenu de facteur de sécurité inter-espèces.

8.2 SEUILS D'EFFETS LETAUX CHEZ L'HOMME

L'annexe 1 donne les CL₀₁, CL₀₅ et CL₅₀ pour l'acide nitrique et pour des durées d'exposition de 1, 10, 20, 30, 60, 120, 240 et 480 minutes, après utilisation du logiciel probit et après application de la méthodologie française pour le calcul aux autres temps que le POD. Les résultats du logiciel probit standard sont eux présentés en annexe 2.

Les valeurs pour les CL₀₁ et CL₀₅ obtenues après utilisation du logiciel probit standard (après application de la méthodologie pour le calcul aux autres temps que le POD) sont les suivantes :

CL ₀₁ (ppm)		CL ₀₅ (ppm)	
Temps (min)		Temps (min)	
1	3269	1	4561
10	1517	10	2117
20	1204	20	1680
30	1052	30	1468
60	835	60	1164
120	418	120	583
240	209	240	291
480	104	480	146

Les experts toxicologues ont convenu de retenir les valeurs issues du logiciel probit standard pour la fixation des seuils des effets létaux en cas d'émission accidentelle d'acide nitrique. Compte tenu des caractéristiques physico-chimiques de l'acide nitrique (liquide très réactif), les émissions d'acide nitrique sont considérées comme un mélange d'aérosol et de gaz.

TEMPS (min)	SELS	
	mg/m ³	ppm
1	11939	4561
10	5542	2117
20	4398	1680
30	3842	1468
60	3050	1164
120	1525	583
240	762	291
480	381	146

En cas d'émission accidentelle à de l'acide nitrique, la co-exposition à du NO₂ n'est pas exclue. L'utilisation des seuils de toxicité du NO₂ doit être considérée dans des situations où la quantité de NO₂ est supposée importante (par exemple en situation d'incendie).

TEMPS (min)	SPEL	
	mg/m ³	ppm
1	8557	3269
10	3972	1517
20	3153	1204
30	2754	1052
60	2186	835
120	1093	418
240	546	209
480	273	104

$$Y = 2,058 \ln(\text{concentration}) - 16,171$$

8.3 SEUILS DES EFFETS IRREVERSIBLES

Dans l'étude de Dupont (1987), des lésions ulcéraives cutanées sont rapportées à toutes les concentrations d'exposition, dès 260 ppm (après exposition de 60 minutes). L'apparition de ces lésions irréversibles est retenue comme point de départ pour l'élaboration des seuils des effets irréversibles, avec application de la méthodologie française pour le calcul aux autres temps que le POD. L'acide nitrique ayant une action toxique locale, un facteur additionnel de 3 (variation intra espèce) est appliqué.

Les valeurs de seuils des effets irréversibles en cas d'émission accidentelle d'acide nitrique sont les suivantes :

TEMPS (min)	SEI	
	mg/m ³	ppm
1	888	339
10	412	157
20	327	125
30	286	109
60	227	87
120	113	43
240	57	22
480	28	11

En cas d'émission accidentelle à de l'acide nitrique, la co-exposition à du NO₂ n'est pas exclue. L'utilisation des seuils de toxicité du NO₂ doit être considérée dans des situations où la quantité de NO₂ est supposée importante (par exemple en situation d'incendie).

8.4 SEUILS DES EFFETS REVERSIBLES

Les données de la littérature ne sont pas suffisantes pour déterminer des seuils des effets réversibles pour l'acide nitrique.

8.5 SEUIL DE PERCEPTION

Le seuil olfactif proposé se base sur l'étude de Ruth *et al.* (1986) et est de 0,29 ppm (0,75 mg/m³).

9. CONCLUSION

En cas d'émission accidentelle à de l'acide nitrique, la co-exposition à du NO₂ n'est pas exclue. L'utilisation des seuils de toxicité du NO₂ doit être considérée dans des situations où la quantité de NO₂ est supposée importante (par exemple en situation d'incendie).

- **SEUILS D'EFFETS LETAUX**

Compte tenu des caractéristiques physico-chimiques de l'acide nitrique (liquide très réactif), les émissions d'acide nitrique sont considérées comme un mélange d'aérosol et de gaz. Les valeurs de seuils d'effets létaux sont les suivantes :

TEMPS (min)	SELS	
	mg/m ³	ppm
1	11939	4561
10	5542	2117
20	4398	1680
30	3842	1468
60	3050	1164
120	1525	583
240	762	291
480	381	146

TEMPS (min)	SPEL	
	mg/m ³	ppm
1	8557	3269
10	3972	1517
20	3153	1204
30	2754	1052
60	2186	835
120	1093	418
240	546	209
480	273	104

$$Y = 2,058 \ln(\text{concentration}) - 16,171$$

- **SEUILS D'EFFETS IRREVERSIBLES**

Compte tenu des caractéristiques physico-chimiques de l'acide nitrique (liquide très réactif), les émissions d'acide nitrique sont considérées comme un mélange d'aérosol et de gaz. Les valeurs de seuils des effets irréversibles en cas d'émission accidentelle d'acide nitrique sont les suivantes :

TEMPS (min)	SEI	
	mg/m ³	ppm
1	888	339
10	412	157
20	327	125
30	286	109
60	227	87
120	113	43
240	57	22
480	28	11

- **SEUILS D'EFFETS REVERSIBLES**

Les données de la littérature ne sont pas suffisantes pour déterminer des seuils des effets réversibles pour l'acide nitrique.

- **SEUIL DE PERCEPTION**

Le seuil olfactif proposé se base sur l'étude de Ruth *et al.* (1986) et est de 0,29 ppm (0,75 mg/m³).

10. REFERENCES

- Abraham WM, Kim CS, King MM *et al.* Effects of nitric acid on carbachol reactivity of the airways in normal and allergic sheep. *Arch Environ Health.* 1982; 37(1):36-40
- AEGL. Interim acute exposure guideline levels for Nitric Acid, (interim 1: 10/2006). US EPA. 2006. <http://www.epa.gov/oppt/aegl/pubs/chemlist.htm>
- AIHA. American Industrial Hygienist Association. ERPG value for Nitric Acid. 2008. <http://www.aiha.org/content/insideaiha/volunteer+groups/erpcomm.htm>.
- Aris R, Christian D, Tager I, Ngo L *et al.* Effects of nitric acid gas alone or in combination with ozone on healthy volunteers. *Am Rev Resp Dis.* 1993; 148:965-73.
- Becker S, Roger LJ, Devlin RB et Koren HS. Increased Phagocytosis And Antiviral Activity Of Alveolar Macrophages From Humans Exposed To Nitric Acid *Am Rev Resp Dis.* 1992; 145:A429.
- Blenkinsopp WK. Bronchiolar damage and emphysema: a study in rats. *J Pathol Bacteriol.* 1968; 95(2):495-502.
- Bur A, Wagner A, Röggl M *et al.* Fatal pulmonary edema after nitric acid inhalation. *Resuscitation* 1997; 35(1):33-6.
- Camiel MR ; Berkan HS. Inhalation Pneumonia from Nitric Fumes. *Radiology.* 1944; 42(2):175-182.
- Christensen TG, Lucey EC, Breuer R *et al.* Acid-induced secretory cell metaplasia in hamster bronchi. *Environ Res.* 1988; 45(1):78-90.
- Coalson JJ, Collins JF. Nitric acid-induced injury in the hamster lung. *Br J Exp Pathol.* 1985; 66(2):205-15.
- Diem, L. 1907. [Experimentelle Untersuchungen über die Einatmung von Salpetersäure-Dämpfen]. Thesis, D-8700, Würzburg. (translated from German). *Cité dans* AEGL, 2006.
- Di Lorenzo L, Margiotta M, Lerro A *et al.* In vitro mucociliary clearance: observations in subjects exposed to acute inhalation of nitrous vapors. *Med Lav.* 1990; 81(2):124-9. Abstract.
- Diggle WM & Cage JC. The Toxicity of Nitrogen Pentoxide. *British Journal of Industrial Medicine,* 1954; 11:140-144.
- DOE (US Department of Energy), Office of Health, Safety and Security, 2005. Revision 21 of AEGLs, ERPGs and TEELs for Chemicals of Concern. Disponible sur : http://www.hss.energy.gov/HealthSafety/WSHP/chem_safety/teel.html. Consulté en février 2009.
- Dupont, 1987. One-hour inhalation median lethal concentration (LC₅₀) study with nitric acid. Haskell Laboratory. Report N°451-87. Newark, Delaware. 26p.
- Flury F. Die Rolle des Stickstoffmonoxyds bei der Vergiftung durch Nitrose Gase, *Arch.exper.Path u. Pharmakol.* 1930; 1575:104. *Cité dans* McAdams AJ JR et Krop S.(1955)
- Fraenkel A. Bronchiolitis Fibrosa Obliterans, Together with Some Remarks on Pulmonary Hyperemia and Indurating Pneumonia. *Deutsches Archiv fuer Klinische Medizin,* 1902; 73:484-510. Abstract
- Gardiner TH, Schanker LS. Effect of oxygen toxicity and nitric acid-induced lung damage on drug absorption from the rat lung. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.* 1976; 15(1):107-20.

Gray el, Patton FM, Goldberg SB *et al.* Toxicity of the oxides of nitrogen. II. Acute inhalation toxicity of nitrogen dioxide, red fuming nitric acid, and white fuming nitric acid. *AMA Arch Ind Health.* 1954; 10(5):418-22.

Hajela R, Janigan DT, Landrigan PL *et al.* Fatal pulmonary edema due to nitric acid fume inhalation in three pulp-mill workers. *Chest.* 1990; 97(2):487-9.

Hall J.N and Cooper CE. The effects of the inhalation of the fumes of nitric acid with report of cases. *JAMA.* 1905; 45:396-399.

Institut national de l'environnement industriel et des risques (INERIS). Méthodologie de détermination des valeurs seuils de toxicité aiguë françaises en cas d'émission accidentelle de substances chimiques dans l'atmosphère. 2007; 25p.

Institut national de l'environnement industriel et des risques (INERIS). Oxydes d'azote NOx, Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. 2005.

Institut national de l'environnement industriel et des risques (INERIS). Seuils de Toxicité Aiguë, Dioxyde d'azote (NO2). 2004.

Institut national de l'environnement industriel et des risques (INERIS). Analyse critique de l'étude de dangers relative aux installations de stockage d'acide nitrique, Société RHODIA CHIMIE LA MADELEINE (NORD), Rapport N°INERIS-DRA-20 00–23415. 2000; 54p.

Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS). Fiche toxicologique N°9, Acide Nitrique, France. 1997.

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

Koenig JQ., Covert DS and Pierson WE. Effects of Inhalation of Acidic Compounds on Pulmonary Function in Allergic Adolescent Subjects. *Environmental Health Perspectives.* 1989; Vol. 79:173-178.

Lageze P, Chassard A, Biessy R, Buttin P. Acute toxic bronchopneumopathies due to inhalation of nitric acid vapor. *Lyon Med.* 1959; 8;91:795-802. French.

Lauwerys RR. - Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. - 4ème éd. – Paris : Masson, 1999. Chapitre 15, Gaz et vapeurs irritants et asphyxiants, 530-589.

Lehmann KB et Hasagawa. Studies on the effects on technically and hygienically important gases and vapors on man – The nitrous – Nitric oxide, nitrogen dioxide, nitrous acid, nitric acid. *Arch. Hyg.* 1913;77: 323-368 (*Cité dans* AEGL, 2006)

Lewis, Richard J. Sr. *Sax's Dangerous Properties of Industrial Materials* (11th Edition). John Wiley & Sons. 2004. Volume 2, p2643.

Mautz WJ, Kleinman MT, Phalen RF *et al.* Effects of exercise exposure on toxic interactions between inhaled oxidant and aldehyde air pollutants. *J Toxicol Environ Health.* 1988; 25(2):165-77.

McAdams AJ JR; Krop S. Injury and death from red fuming nitric acid. *J Am Med Assoc.* 1955; 158(12):1022-4.

Merck Index. An encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals, 14ème ed. Merck & Co. Inc., USA. 2006.

Mink SN, Coalson JJ, Whitley L *et al.* Pulmonary function tests in the detection of small airway obstruction in a canine model of bronchiolitis obliterans. *Am Rev Resp Dis.* 1984; 130(6):1125-33.

Myint SS, Lee SK. Pulmonary effects of acute exposure to nitrous fumes--a case report. Singapore Med J. 1983; 24(5):312-3

Nadjziejko Ce, Nansen L. Effect of nitric acid vapour on the response to inhaled ozone. Inhalation Toxicology, 1992; 4:343-358.

NIOSH National Institute for Occupational Safety and Health Documentation for Immediately Dangerous to Life or Health Concentrations (IDLH). Disponible sur : <http://www.cdc.gov/niosh/idlh/intridl4.html>. Consulté en février 2009.

NIOSH, Institute for Occupational Safety and Health. Criteria for a recommended standard Occupational exposure to nitric acid. Cincinnati. NIOSH publication n°78, 1976, 195p. <http://www.cdc.gov/niosh/76-141.html>

Ostro BD, Lipsett MJ, Wiener MB *et al.* Asthmatic responses to airborne acid aerosols. Am.J.Public Health.1991; 81:694-702.

Pascal P, Nouveau traité de Chimie Minérale, tome X : Azote-Phosphore. Paris : Masson et Cie, éditeurs, 1956. pXI-963.

Ruth J.H.. Odor thresholds and irritation levels of several chemical substances: a review. Am. Ind. Hyg. Assoc. J., 1986; 47: 142-151.

Sackner MA, Birch S, Friden A *et al.* Effects of breathing low levels of nitrogen dioxide for four hours on pulmonary function of asthmatic adults. Am Rev Resp Dis. 1981; 123(4part2):151.

Sackner, MA and Ford.D. Effects of breathing nitrate aerosols in high concentrations for 10 minutes on pulmonary function of normal and asthmatic adults, and preliminary results in normal exposed to nitric acid fumes. Am. Rev. Resp. Dis. 1981; 123(4part2):151

Schmid KO. Pathological findings on late sequelae after inhalation of nitrogenous fumes (author's translation). Pneumologie. 1974;150:133-7. Article en allemand sans abstract cité dans HSDB (base de données consultée en ligne en juillet 2008 : <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>).

Schussler B. A Case of Poisoning by Inhalation of Nitric Acid Fumes. Vergiftungsfalle, 1935; 6:123-124. Abstract.

Société Française de Chimie. Dossiers et documents de la SFC, Acide Nitrique. <http://www.sfc.fr/Donnees/mine/hno3/texhno3.htm>. Site internet consulté le 23 février 2009.

11. LISTE DES ANNEXES

Repère	Désignation	Nombre de pages
Annexe 1	Tableau des effets létaux déterminés pour l'acide nitrique chez le rat (Dupont, 1987)	1
Annexe 2	Sortie du logiciel standard-probit (Dupont, 1987)	2
Annexe 3	Sortie du logiciel pkpd (Dupont, 1987)	5
Annexe 4	Critères pour la cotation de Klimisch (1997)	1

Annexe 1

**Tableau des concentrations létales de l'acide nitrique chez le rat
Déterminées par application de la méthodologie française pour le calcul aux autres
temps que le POD avec n=1 et n=3**

(Dupont, 1987)

Temps	CL1%	CL5%	CL50%
1	3269	4561	10136
10	1517	2117	4705
20	1204	1680	3734
30	1052	1468	3262
60	835	1164	2588
120	418	583	1295
240	209	291	647
480	104	146	324

Annexe 2

Sortie du logiciel standard-probit (Dupont, 1987)

1/ The data

Substance : HNO₃

Species : rat

Study reference : Dupont, 1987

Number of groups : 8

Concentration	Time	N_obs	N_incid
260	60	10	0
470	60	10	0
1300	60	10	1
1500	60	10	1
1600	60	10	2
2500	60	10	3
2700	60	10	3
3100	60	10	10

2/ Model parameter estimates and their confidence intervals

Model parameter estimates

	Estimate*	95% Confidence Interval
mu	7.859	[7.71,8.61]
sigma	0.486	[0.361,1.71]

* The estimate is obtained from maximum posterior vector.

Effective toxic dose is approximately :

$$2.058 \ln(C) - 16.171$$

3/ Reference concentrations and their 95% confidence intervals

Reference concentrations LC1% and their 95% confidence intervals

Time	estimate	95% Confidence Interval
60	835.025	[86.1,1100]

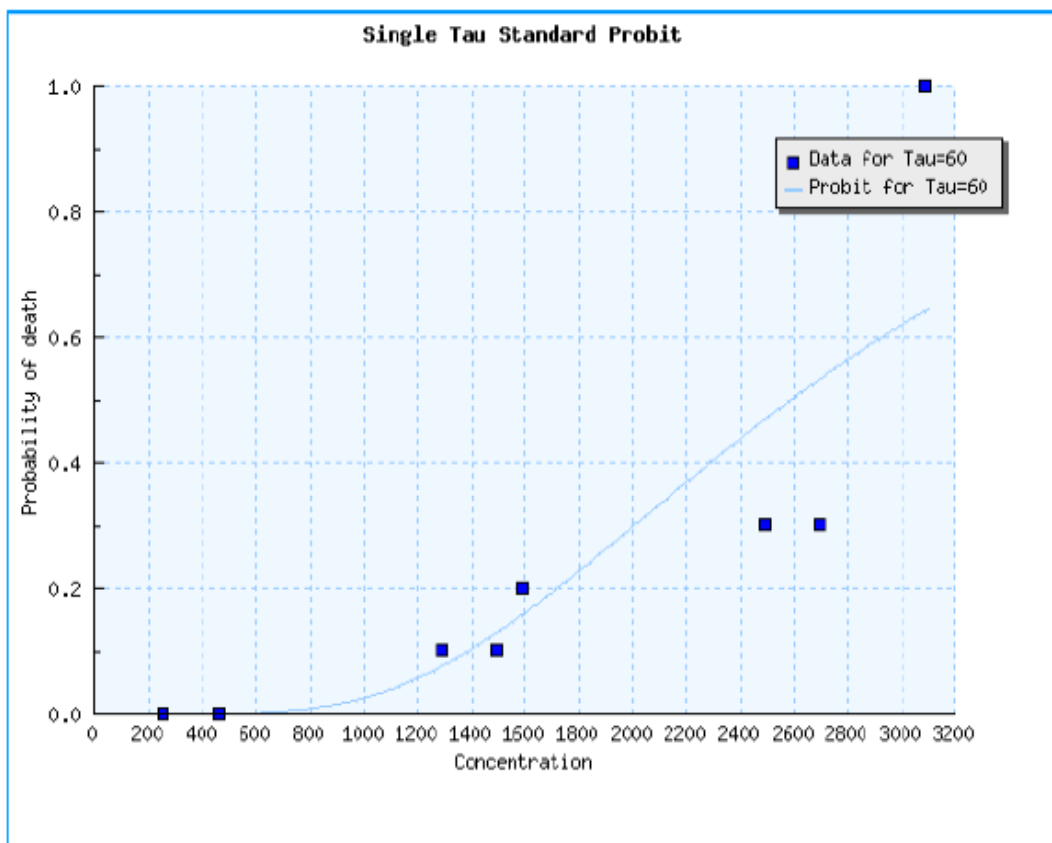
Reference concentrations LC5% and their 95% confidence intervals

Time	estimate	95% Confidence Interval
60	1164.54	[272,1420]

Reference concentrations LC50% and their 95% confidence intervals

Time	estimate	95% Confidence Interval
60	2588.52	[2220,5460]

4. Probability of an adverse response of all the simulation



Annexe 3
Critères pour la cotation de Klimisch (1997)

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