



Expertise collective

Éthers de glycol

Nouvelles données
toxicologiques

Inserm

Institut national
de la santé et de la recherche médicale

Cet ouvrage présente les travaux du groupe d'experts réunis par l'Inserm dans le cadre de la procédure d'expertise collective, pour répondre à la demande de l'Agence française de sécurité sanitaire environnementale (Afsse), devenue l'Agence française de sécurité sanitaire environnementale et du travail (Afsset) depuis le 1^{er} septembre 2005. Ce travail fait suite à l'expertise collective réalisée en 1999 « Éthers de glycol, quels risques pour la santé » et fait le bilan des nouvelles données toxicologiques sur les éthers de glycol produites depuis. Il s'appuie sur les données scientifiques disponibles en date du premier trimestre 2005. Environ 150 documents (articles et rapports d'évaluation) ont constitué la base documentaire de cette expertise.

Le Centre d'expertise collective de l'Inserm a assuré la coordination de cette expertise collective.

Groupe d'experts et auteurs

Sylvaine CORDIER, Reproduction et environnement, Inserm U 625 GERHM, Université de Rennes I, Rennes

Robert GARNIER, Centre antipoison, Hôpital Fernand Widal, Paris

Vincent GAZIN, Toxicologie, Direction de l'évaluation des médicaments et des produits biologiques, Unité de veille toxicologique et d'évaluation non clinique, Afssaps, Saint-Denis

Luc MULTIGNER, Reproduction et environnement, Inserm U 625 GERHM, Université de Rennes I, Rennes

Paule VASSEUR, Écotoxicité, Laboratoire écotoxicité, santé environnementale, CNRS UMR 7146, Université de Metz, Metz

Ont été auditionnées

Claire BEAUSOLEIL, Département des risques chimiques et biologiques, INRS, Paris

Annie LAUDET-HESBERT, Département des risques chimiques et biologiques, INRS, Paris

Coordination scientifique et éditoriale

Fabienne BONNIN, Attachée scientifique, Centre d'expertise collective de l'Inserm, Faculté de médecine Xavier-Bichat, Paris

Nathalie BONVALLOT, Évaluation des risques liés aux substances chimiques, Afsset, Paris

Catherine CHENU, Chargée d'expertise, Centre d'expertise collective de l'Inserm, Faculté de médecine Xavier-Bichat, Paris

Jeanne ÉTIEMBLE, Directrice, Centre d'expertise collective de l'Inserm, Faculté de médecine Xavier-Bichat, Paris

Anne-Laure PELLIER, Attachée scientifique, Centre d'expertise collective de l'Inserm, Faculté de médecine Xavier-Bichat, Paris

Assistance bibliographique

Chantal RONDET-GRELLIER, Documentaliste, Centre d'expertise collective de l'Inserm, Faculté de médecine Xavier-Bichat, Paris

Sommaire

Avant-propos	XI
Analyse	
1. Toxicocinétique	1
2. Hématotoxicité et immunotoxicité.....	13
3. Mutagénicité, génotoxicité et cancérogénicité expérimentales.....	37
4. Effets sur la fonction de reproduction et le développement chez l'animal	67
5. Études épidémiologiques des effets sur la reproduction et le développement.....	81
Synthèse	95
Annexes	99

Avant-propos

Les éthers de glycol sont des molécules constituant une famille de plus de 80 dérivés. Grâce à leur solubilité à la fois dans l'eau et dans les solvants organiques, une trentaine d'entre eux sont utilisés dans de nombreuses applications industrielles, en particulier comme solvants dans la fabrication des peintures. On les retrouve également dans de nombreuses préparations telles que les colles, encres, vernis, diluants, cosmétiques, produits d'entretien, produits de mécanique et de métallurgie...

Les profils chimiques des éthers de glycol utilisés ont beaucoup évolué ces dernières années. En France, depuis 1997, de nombreuses dispositions réglementaires ont été prises concernant les dérivés de la série éthylénique (classification en substances cancérigènes et/ou mutagènes et/ou reprotoxiques (classification CMR), restriction d'usage en milieu industriel et interdiction dans les produits à usage domestique de certains de ces dérivés), favorisant leur remplacement progressif par des dérivés de la série propylénique, dont la toxicité serait moins importante.

En 2003, la Direction générale de la santé (DGS) rendait public le plan d'action gouvernemental sur les éthers de glycol. Dans ce cadre, le Ministère de la Santé demandait à l'Afsse¹ de faire un bilan des connaissances toxicologiques nouvelles sur le sujet. Dans le cadre d'une convention de partenariat, l'Afsse a sollicité l'Inserm pour une réactualisation des données toxicologiques et épidémiologiques de l'expertise collective de 1999 à partir des données disponibles depuis 1998 jusqu'à 2005.

Pour répondre à cette demande, l'Inserm a constitué un groupe d'experts rassemblant des compétences en écotoxicologie, toxicologie clinique et environnementale, biologie du développement et de la reproduction et épidémiologie.

Les questions posées au groupe d'experts étaient les suivantes :

- Quelle est la toxicocinétique des éthers de glycol apparus sur le marché depuis 1998 ?
- Quelles sont les données récentes sur les effets mutagènes et génotoxiques de l'ensemble des éthers de glycol ?

1. L'Agence française de sécurité sanitaire environnementale (Afsse) est devenue l'Agence française de sécurité sanitaire environnementale et du travail (Afsset) depuis le 1^{er} septembre 2005.

- Quelles sont les données récentes sur les effets des éthers de glycol concernant la fonction de reproduction, le développement embryonnaire et foetal, et en matière de tératogénèse ?
- Quelles sont les données récentes sur la toxicité médullaire, l'immunotoxicité, et l'hématotoxicité des éthers de glycol ?
- Quels sont les résultats des études épidémiologiques publiées depuis 1998 en milieu professionnel et en population générale ?
- Quels sont les nouveaux effets des éthers de glycol sur la santé humaine qui ont été mis en évidence depuis 1999 ?
- Quels sont les effets des éthers de glycol qui n'avaient pas été pris en compte dans l'expertise de 1999 et qui ont été intégrés à l'analyse ?

Les recherches ont été effectuées dans les bases de données factuelles suivantes : *Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR)* ; *National Toxicology Program (NTP)*, programme qui regroupe les activités en toxicologie du *National Institute of Health / National Institute of Environmental Health Sciences (NIH/NIEHS)*, du *Center for Disease Control and prevention / National Institute for Occupational Safety and Health (CDC/NIOSH)*, et de la *Food and Drug Administration / National Center for Toxicological Research (FDA/NCTR)*, de l'*European Chemical Bureau (ECB)*, de l'*International Programme on Chemical Safety (IPCS)*, de l'*Organisation for Economic Cooperation and Development (OCDE)*, de l'*Hazardous Substances Data Bank (HSDB)*... Elles ont permis de repérer 21 rapports publiés depuis 1998, auxquels s'ajoutent 4 rapports d'évaluation de risques en préparation (2 éthers de glycol et leurs acétates), pour lesquels la France est le rapporteur, et qui ont été fournis par l'Institut national de recherche et de sécurité (INRS). Par ailleurs, le fond documentaire d'articles scientifiques obtenus par l'interrogation des bases de données françaises et internationales (Medline, Embase, Toxline, Pascal, Biosis) est constitué de 130 références. Enfin, les dernières éditions du rapport technique de toxicologie des éthers de glycol² du Centre européen d'écotoxicologie et de toxicologie des substances chimiques (ECETOC) et du *Patty's Toxicology*³ ont été consultées.

Enfin, les industriels producteurs des éthers de glycol ont été sollicités au travers de l'Association des producteurs de solvants oxygénés (OSPA), de l'Union des industries chimiques (UIC) et de la Fédération des industries des peintures, encres, couleurs, colles et adhésifs (FIPEC), afin de fournir au groupe d'experts les données toxicologiques obtenues depuis 1999 sur l'ensemble des substances, y compris les nouvelles molécules.

2. ECETOC WORKING GROUP. The Toxicology of Glycol Ethers and its Relevance to Man (4th Edition), Volumes 1 & 2. Technical Report 95. European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals, Bruxelles, 2005.

XII 3. *Patty's Toxicology*, 6th ed., John Wiley & Sons, New York, (en préparation).

Au cours de 6 séances de travail organisées entre les mois d'octobre 2004 et juillet 2005, les experts ont présenté une analyse critique et une synthèse des travaux publiés sur les différents aspects traités.

1

Toxicocinétique

Du fait de leur caractère amphiphile, les éthers de glycol traversent facilement les membranes et se répartissent dans les compartiments aqueux et lipidiques. Absorbés de manière importante quelle que soit la voie de pénétration (orale, cutanée, pulmonaire), ils se distribuent dans la plupart des tissus biologiques, y compris dans les tissus fœtaux. Cependant, les données précises de distribution relatives à chaque éther de glycol restent éparses. Les systèmes enzymatiques transforment ensuite les éthers de glycol en composés hydrosolubles plus facilement éliminés ou en métabolites réactifs, responsables de manifestations toxiques. Les données essentielles de toxicocinétique et de métabolisme avaient été obtenues pour l'EGME lors de l'expertise Inserm de 1999 ; les données récentes concernent principalement l'EGBE et le DEGEE.

Absorption

L'expertise Inserm de 1999 rapportait que l'absorption des éthers de glycol par voie cutanée est très importante pour la plupart d'entre eux. La pénétration cutanée varie de 20 à 2 800 $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^2$, en fonction inverse du poids moléculaire. Ce mode de pénétration est facilité lorsque les éthers de glycol sont en solution aqueuse ou éthanolique et/ou lorsque la température ambiante est élevée. Après exposition aux « vapeurs » ou aérosols d'EGBE, les mesures indiquent que la pénétration par la peau peut être quantitativement plus importante que par voie pulmonaire. La perméabilité de la peau humaine aux éthers de glycol est inférieure à celle de la peau des rongeurs avec des rapports rat/homme de 2 à 30 selon les composés.

L'absorption respiratoire des éthers de glycol est proportionnelle aux concentrations atmosphériques. Expérimentalement, chez des volontaires, l'absorption de vapeurs de divers éthers de l'éthylène glycol a été évaluée à 50-80 % de la quantité inhalée, selon les dérivés.

À l'exception des polyéthers de glycol ayant un nombre de résidus éthers supérieur à 5, tous les éthers testés pénètrent en totalité dans l'organisme par voie orale, un très faible pourcentage (moins de 5 %) se retrouvant inchangé dans les fèces.

Plusieurs études de pénétration cutanée de différents éthers de glycol ont été mises en œuvre depuis 1999.

EGBE

Le passage percutané de l'EGBE a été étudié chez le rat après application en conditions occlusives d'EGBE non dilué marqué au ^{14}C . Après 24 h, 28 % de la dose étaient absorbés (Lockley et coll., 2004). En parallèle, le passage de l'EGBE a été évalué *in vitro* sur cellule de diffusion à flux continu, à partir de peau de rat et de peau humaine. La pénétration était de 16 % en conditions non occlusives et de 18 % en conditions occlusives à travers la peau de rat dermatomée, contre 4 % avec la peau humaine dermatomée, en conditions non occlusives. Aucune accumulation ni métabolisation cutanée n'a été mise en évidence, aussi bien *in vivo* que *in vitro*. Une étude effectuée chez des volontaires sains a montré que le flux de l'EGBE appliqué au niveau de l'avant bras était de $0,74 \text{ mg}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ (Jakasa et coll., 2004).

EGEE

Le passage transcutané a également été évalué pour l'EGEE selon un schéma d'étude similaire à celui de l'EGBE (Lockley et coll., 2002). Les taux de pénétration cutanée étaient de 22 % *in vitro* et de 25 % *in vivo* à travers la peau de rat, contre 8 % *in vitro* à travers la peau d'origine humaine.

EGHE

La pénétration transcutanée de l'EGHE a été étudiée chez le rat et le lapin. L'application d'EGHE marqué au ^{14}C durant 48 h en conditions occlusives a conduit à une absorption de plus de 95 % chez ces deux animaux (Ballantyne et coll., 2003). La voie d'excrétion majoritaire était la voie urinaire (21 à 33 % de la dose), après métabolisation intense (l'EGHE libre n'étant par retrouvé dans les urines).

EGPhE

La pénétration cutanée de l'EGPhE a été évaluée *in vitro* sur peau de rat dermatomée, en conditions non occlusives. Le taux de pénétration variait de 43 % (cellule de diffusion à flux continu contenant un milieu de culture) à 64 % (cellule de diffusion statique contenant une solution aqueuse d'éthanol) 24 h après application (Roper et coll., 1998). Dans ces conditions non occlusives, 32,4 % à 51 % de l'EGPhE s'évapore.

DEGEE

La pénétration percutanée du DEGEE inclus dans différentes formulations a été évaluée *in vitro* sur peau humaine, aux concentrations de 5, 10 ou 15 %. La quantité de DEGEE mesurée dans le liquide récepteur et dans les différents compartiments cutanés représentait 20 à 50 % de la dose appliquée, en fonction des formulations (Gattefossé, rapport non publié, 2004).

Comparaison de plusieurs éthers de glycols

L'expertise Inserm de 1999 rapportait des taux de pénétration cutanée de différents éthers de glycol et diéthers allant de 35 à 2 800 $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ chez l'homme, ces taux variant en fonction inverse du poids moléculaire des composés : EGME > 2PG1ME > EGEE > EGEEA > EGnPE > DEGME > DEGEE > DEGBE (Inserm, 1999). Les travaux de Larese-Filon et coll. (1999) complètent ou confirment ces résultats pour l'EGDME (3 430 $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$), le DEGDME (950 $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$), l'EGEE (820 $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$), le 2PG1ME (470 $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$) et le 2PG1MEA (60 $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$), le 2PG1ME et le 2PG1MEA ayant un degré de pureté supérieur à 99 %. Par ailleurs, Venier et coll. (2004) ont étudié *in vitro* le passage percutané du DPGME, de l'EGnPE, de l'EGiPE, de l'acétate d'EGME et de l'acétate de DEGBE, pur ou dilué en milieu aqueux à 50 % (6,5 % pour l'acétate de DEGBE du fait de sa faible solubilité), au travers de la peau dermatomée d'origine humaine (cellule statique contenant une solution de NaCl à 0,9 %, avec occlusion). Le flux variait de 42,4 $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ à 902 $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$, en fonction du type d'éther et de sa dilution.

Les études de pénétration cutanée effectuées *in vitro* sont difficilement extrapolables à des situations d'exposition réelles car la pénétration dépend des conditions expérimentales (flux, composition du liquide récepteur, occlusion, préparation de la peau, formulation) (Wilkinson et coll., 2002). Chez l'homme, la pénétration cutanée est favorisée par une atmosphère humide et une température élevée (Inserm, 1999). Cela a été vérifié chez des volontaires exposés à des vapeurs d'EGBE : pour une température de 25°C et un taux d'humidité de 40 %, 11 % de la dose absorbée pénètre par voie cutanée contre 39 % à une température de 30°C et un taux d'humidité de 60 % (le reste de la dose étant absorbé suite à l'inhalation ou l'ingestion) (Brooke et coll., 1998). Au cours d'études similaires, Jones et coll. (2003) ont montré qu'aux températures ambiantes habituelles 5 à 10 % de l'absorption des vapeurs de PGME s'effectuent par passage transcutané.

En résumé, les études publiées depuis l'expertise Inserm de 1999 confirment l'importante pénétration cutanée des éthers de glycol, ainsi que la variabilité de pénétration en fonction de l'espèce, du modèle d'étude utilisé et des conditions environnementales. Globalement, le passage transcutané des éthers de glycol est plus faible chez l'homme que chez le rat ; il est augmenté en atmosphère chaude et humide.

Distribution

Comme cela a été rapporté au cours de l'expertise Inserm de 1999, les éthers de glycol accèdent à tous les compartiments dans les minutes qui suivent l'absorption, quelle que soit la voie d'administration. Après quelques heures, de fortes concentrations se retrouvent dans le foie, les reins et la graisse. Pour l'EGME, de fortes concentrations ont été retrouvées dans la moelle osseuse, la vessie, la rate et le thymus de souris. Une forte rémanence de composés est observée dans la carcasse et dans le foie pour l'EGME et l'EGBE. Les nouvelles données de distribution concernent deux éthers de glycol : l'EGBE et le DEGEE.

EGBE

Chez la souris, après inhalation d'EGBE, l'estomac antérieur constitue une cible toxicologique (inflammation, ulcération et hyperplasie du pré-estomac chez les deux sexes, papillomes et carcinomes chez les femelles) (NTP, 2000). Dans ces conditions, il apparaît que l'EGBE se distribue dans l'estomac antérieur par différents mécanismes : clairance mucociliaire et déglutition secondaire de la fraction inhalée qui s'est déposée dans l'arbre respiratoire ; ingestion secondaire, suite à la toilette de l'animal, de la fraction déposée sur le pelage de ce dernier (inhalation corps entier) et par excrétion salivaire ; passage depuis la circulation systémique. Le BAA (acide butoxyacétique), formé à partir de la métabolisation locale de l'EGBE, se distribue également dans l'estomac antérieur par excrétion salivaire et passage depuis la circulation systémique (Poet et coll., 2003). Après administration orale unique de 600 mg/kg d'EGBE chez la souris, le produit et ses métabolites BALD (butoxyaldéhyde) et BAA sont retrouvés dans le sang, le foie et l'estomac antérieur. Les concentrations de BALD sont environ un millier de fois plus faibles que celles du BAA ou de l'EGBE. Au niveau de l'estomac antérieur, la concentration en BALD, allant jusqu'à 30 μM , est approximativement 10 fois supérieure à celle mesurée dans le foie ou le sang. Sa présence est majoritairement liée au contenu gastrique et sa persistance dans l'estomac antérieur pourrait être due à une production locale continue de BALD plutôt qu'à une faible clairance. Contrairement au BALD, la concentration du BAA dans le tissu gastrique est inférieure à celle mesurée dans le foie ou le sang (Deisinger et coll., 2004).

DEGEE

4 La distribution du DEGEE a été évaluée chez le rat après administration intraveineuse ou orale de produit radiomarqué à la dose de 20 mg/kg (Gattefossé,

rapport non publié, 2002). Les radioactivités les plus importantes ont été mesurées dans l'hypophyse (jusqu'à 530 fois la radioactivité plasmatique, non détectable au-delà de 6 h), la thyroïde (jusqu'à 125 fois la radioactivité plasmatique, non détectable au-delà de 6 h), les surrénales (jusqu'à 44 fois la radioactivité plasmatique) et la moelle osseuse (jusqu'à 87 fois la radioactivité plasmatique). Dans le rein et le foie, la radioactivité a atteint jusqu'à 3,6 fois la radioactivité plasmatique.

En résumé, peu d'études de distribution des éthers de glycol ont été réalisées depuis l'expertise Inserm de 1999. D'une manière générale, le profil de distribution des éthers de glycol reste donc mal connu.

Métabolisme

Les éthers de glycol sont métabolisés très rapidement. L'expertise Inserm de 1999 rapporte que les esters (acétate en général) sont hydrolysés en quelques minutes dans le sang ou au niveau des muqueuses et ne sont pas détectés dans les fluides biologiques. Les transformations ultérieures impliquent des réactions d'oxydation éventuellement suivies de conjugaisons.

La voie principale du métabolisme des éthers monosubstitués de l'éthylène glycol est une série d'oxydations catalysées par une alcool déshydrogénase puis une aldéhyde déshydrogénase de la fonction alcool terminale. Elle aboutit à la production d'un alcoxyacétaldéhyde, puis d'un acide alcoxyacétique qui peut être secondairement conjugué (figure 1.1A). Une voie alternative peut être impliquée en cas de saturation de la première : elle implique des monooxygénases à cytochrome P450 qui catalysent la rupture du pont éther, libérant un alcool primaire et l'éthylène glycol.

Pour les dérivés du diéthylène et du triéthylène glycol, la voie métabolique principale catalysée par une alcool- et une aldéhyde déshydrogénases conduit à des métabolites aldéhydiques, acides et conjugués semblables à ceux des éthers du monoéthylène glycol. Les monooxygénases, en rompant la ou les liaisons éthers, peuvent libérer un éther du monoéthylène glycol qui serait secondairement transformé comme décrit au paragraphe précédent, mais cette voie métabolique est certainement très minoritaire.

Les glymes (EGDME, DEGDME, TEGDME) sont des diéthers de l'éthylène, du diéthylène et du triéthylène glycol. La première étape de leur métabolisme est probablement une désalkylation d'un groupement méthoxy aboutissant à la production d'un éther monosubstitué (figure 1.2). L'expertise Inserm de 1999 avait rapporté que l'existence de cette voie métabolique était expérimentalement démontrée pour le DEGDME.

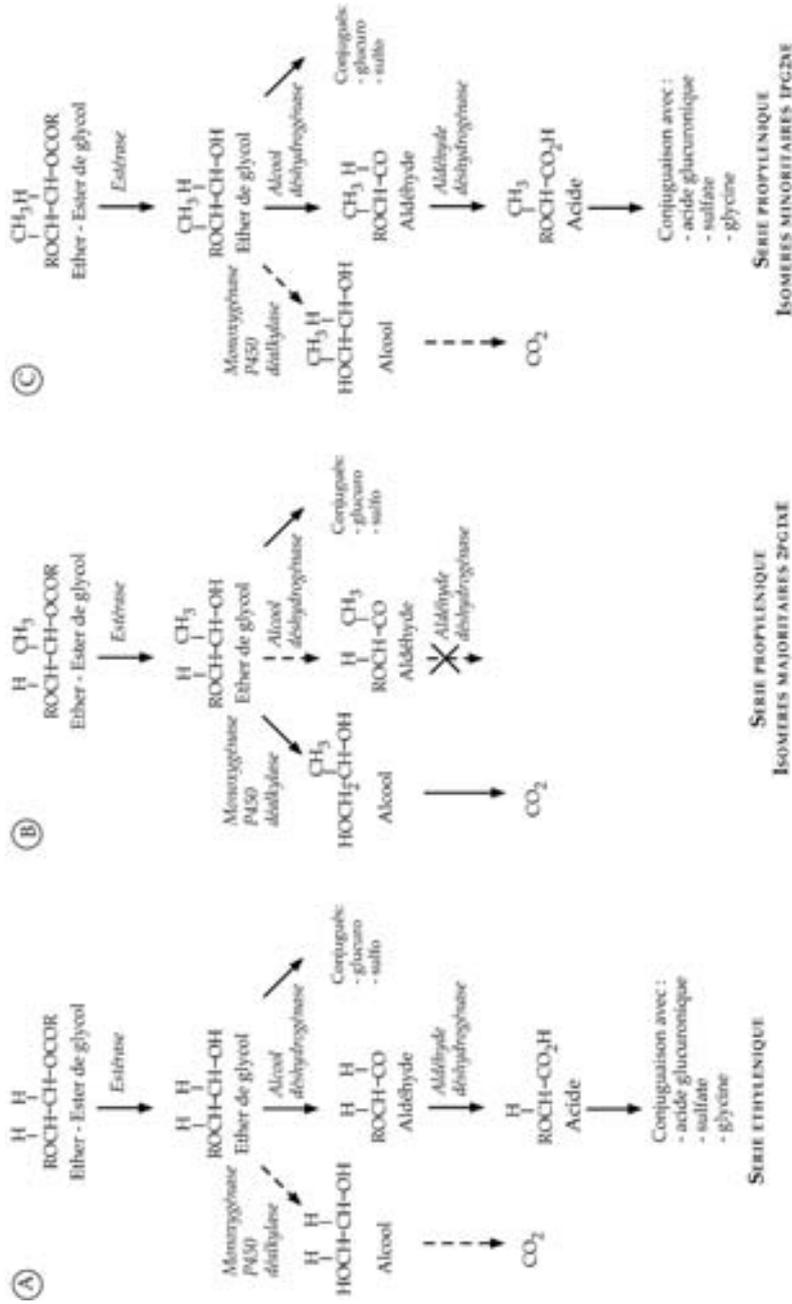


Figure 1.1 : Métabolisme des éthers de glycol

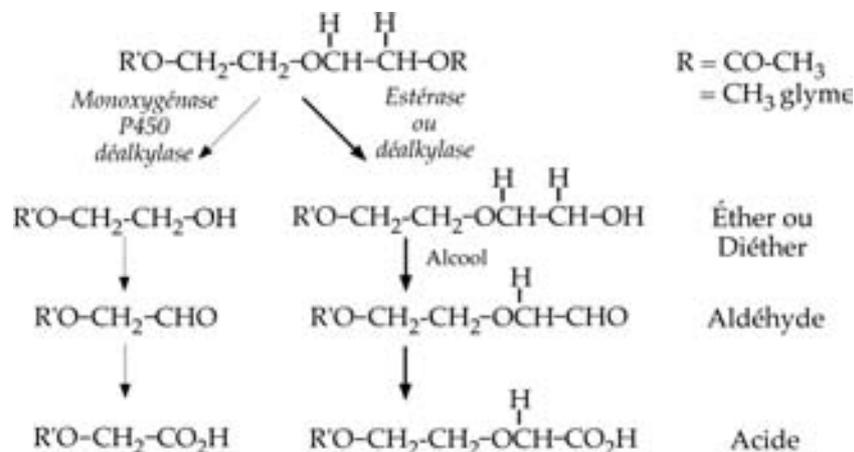


Figure 1.2 : Métabolisme des diéthers de glycol et des « glymes »

Les éthers du propylène glycol ne suivent pas les mêmes voies métaboliques selon qu'ils sont substitués sur le premier (isomères α) ou le second (isomères β) carbone du propylène glycol. Les isomères α sont transformés par des monooxygénases à cytochrome P450 qui rompent la liaison éther, libérant un alcool et le propylène glycol (figure 1.1B). Les isomères β sont oxydés par le système alcool déshydrogénase/aldéhyde déshydrogénase qui devrait les transformer en alcoxypropionaldéhydes puis en acides alcoxypropioniques, lesquels peuvent être secondairement conjugués (figure 1.1C). En fait, cette voie est établie pour l'isomère β du méthoxypropanol (1PG2ME), mais il est probable que lorsque la chaîne alkyl est plus longue (1PG2EE, 1PG2BE, par exemple) il y ait préférentiellement une désalkylation.

Les éthers du dipropylène et du tripropylène glycol sont transformés par des oxydations catalysées par les mêmes systèmes enzymatiques (alcool- et aldéhyde déshydrogénases, monooxygénases à cytochrome P450) ; à chaque composé correspondent plusieurs isomères et énantiomères qui sont retrouvés en proportions variables dans les préparations commerciales et dont les voies métaboliques ne sont pas précisément connues. Les quelques études disponibles pour l'expertise Inserm de 1999 ne démontraient pas la production d'acides alcoxypropioniques, mais ne permettaient pas non plus de l'éliminer.

Les données nouvelles concernent le 2PG1ME et le DEGEE.

2PG1ME

Une étude de cinétique d'hydrolyse de l'acétate du 2PG1ME (pur à 99,3 %) mise en œuvre chez le rat, *in vivo* et *in vitro*, et également sur tissu d'origine humaine (échantillons de sang et de foie) confirme que les profils métaboli-

ques des éthers de glycol et de leurs acétates sont très semblables. Cependant, des différences de toxicité peuvent survenir au niveau local, comme le montre la survenue de lésions de la muqueuse nasale observées chez le rongeur après inhalation de 2PG1MEA et liées à la génération locale d'acide acétique (Domradzki et coll., 2003).

DEGEE

Une comparaison du métabolisme du DEGEE entre le rat et l'homme a été effectuée *in vitro* (Gattefossé, rapport non publié, 2003a). Des suspensions d'hépatocytes de rat et d'homme ont été préparées à partir de deux foies distincts et ont été incubées en présence de 15, 150 ou 1 500 μM de ^{14}C -DEGEE ou 150 μM de ^{14}C -EGEE. Après 4 h d'incubation, la présence de DEGEE, d'EGEE et d'EAA (acide éthoxyacétique) a été recherchée. Les résultats indiquent que contrairement à l'EGEE, le DEGEE est peu métabolisé par les hépatocytes de rat (70 à 88 % de DEGEE non métabolisé après 4 h) et par les hépatocytes humains (98-99 % de DEGEE non métabolisé après 4 h).

Les métabolites aldéhydiques sont difficilement mis en évidence du fait de leur brève durée de vie, alors que les métabolites ultimes acides peuvent être dosés dans les urines des individus exposés. Le métabolisme de tous les dérivés est loin d'avoir été parfaitement établi chez l'homme, et l'existence des métabolites théoriques nécessite d'être confirmée pour chaque dérivé, par leur caractérisation urinaire lors d'intoxications reconnues (tableau I.I). Plusieurs études rapportent des dosages des métabolites urinaires, effectués dans le but d'évaluer l'exposition humaine à certains éthers de glycol. Il s'agit notamment des acides méthoxyacétique (MAA), éthoxyacétique (EAA), n-propoxyacétique (nPAA), phénoxyacétique (PhAA), butoxyacétique (BAA) et 2-méthoxypropionique (2-MPA), dosés par chromatographie en phase gazeuse (Shih et coll., 2001 ; Ben-Brik et coll., 2004). Chez le rat, après administration orale, le DEGEE est intensément métabolisé ; les deux métabolites urinaires principaux identifiés sont l'acide éthoxyéthoxyacétique et le diéthylène glycol qui représentent respectivement 83 % et 5,4 % de la radioactivité urinaire. Seulement 3 % de la radioactivité correspond au produit inchangé alors que l'acide éthoxyacétique n'a pas été détecté dans les urines (Gattefossé, rapport non publié, 2003b).

Ces données illustrent le fait que les dérivés alcoxyéthoxyéthoxyacétiques et alcoxyéthoxyacétiques des tri- et diéthers sont à prendre en compte dans les études d'exposition car ils sont majoritaires et probablement plus représentatifs de l'exposition et des effets de la molécule mère que l'acide alcoxyacétique correspondant. Par ailleurs, comme cela a été démontré pour les éthers du monoéthylène glycol, l'évaluation de la toxicité des métabolites devrait permettre de mieux caractériser la toxicité des éthers du diéthylène et du triéthylène glycol.

Tableau 1.1 : Métabolites acides formés à partir des éthers de glycol (en gras : éthers de glycol dont le métabolite a été identifié)

Métabolites	Éthers de glycol
Acide méthoxyacétique (MAA)	EGME , EGDME, DEGME, DEGDME, TEGME, TEGDME
Acide méthoxyéthoxyacétique (MEAA)	DEGME , TEGME
Acide éthoxyacétique (EAA)	EGEE , EGDEE, DEGEE, DEGDEE, TEGEE
Acide éthoxyéthoxyacétique (EEAA)	DEGEE , TEGEE
Acide butoxyacétique (BAA)	EGBE , DEGBE, TEGBE
Acide butoxyéthoxyacétique (BEAA)	DEGBE , TEGBE
Acide propoxyacétique (PAA)	EGnPE
Acide phénoxyacétique (PhAA)	EGPhE
Acide méthoxypropionique (2-MPA)	1PG2ME

Élimination

L'expertise Inserm de 1999 rapporte que les éthers de glycol sont rapidement métabolisés, le temps de demi-vie plasmatique étant de l'ordre de 20 à 30 minutes. Il varie cependant selon les éthers de glycol, les espèces animales et les modes d'administration. Les métabolites peuvent avoir des cinétiques d'élimination beaucoup plus lentes. Pour les éthers monosubstitués de l'éthylène glycol, il est établi que la vitesse d'élimination de l'acide alcoxyacétique est proportionnelle à la longueur de la chaîne alkyl : à titre d'exemple, les demi-vies du BAA, de l'EAA et du MAA (acide méthoxyacétique), métabolite de l'EGME, sont respectivement d'environ 6, 40 et 80 h.

Les données nouvelles concernent l'EGHE, le 2PG1tBE et le DEGEE.

Après administration par voie intraveineuse, l'EGHE n'est plus détectable au niveau sanguin après 8 h chez le rat et après 1 h chez le lapin (Ballantyne et coll., 2003). Chez le rat, l'élimination du 2PG1tBE est plus rapide chez le mâle, en raison d'une excrétion urinaire plus intense des métabolites (Dill et coll., 2004). Chez le rat, après administration orale de ¹⁴C-DEGEE, 90 % de la radioactivité sont excrétés dans les urines durant les premières 24 h (Gattefossé, rapport non publié, 2003b).

Modèles de pharmacocinétique

Les différents modèles PBPK (*physiologically based pharmacokinetic*) cités dans l'expertise Inserm de 1999 ont été améliorés en intégrant des études renseignant sur les différences de cinétique liées au sexe, l'âge ou l'espèce. Il s'agit notamment de modèles relatifs à l'EGBE (Corley et coll., 2005a et b), à

l'EGME (Gargas et coll., 2000a ; Hays et coll., 2000), à l'EGEE (Gargas et coll., 2000b) et au PGME (Carney et coll., 2003).

En conclusion, les nouvelles données de pharmacocinétique, postérieures à l'expertise Inserm de 1999, confirment l'importante pénétration cutanée des éthers de glycol. Des études de distribution de l'EGBE ont été conduites suite à la mise en évidence d'atteintes de l'estomac antérieur chez la souris. Ces études ont permis de quantifier la présence de l'EGBE et de ses métabolites dans les différents compartiments gastriques. Par ailleurs, des études de pharmacocinétique ont été menées chez le rat avec le DEGEE, permettant d'obtenir une caractérisation complète de son profil toxicocinétique. Ces données confortent le fait que les éthers de glycol se distribuent dans tous les tissus et notamment au niveau du foie, des reins et de la moelle osseuse. D'importantes quantités de DEGEE ou de ses métabolites ont également été retrouvées au niveau de l'hypophyse, de la thyroïde et des glandes surrénales. L'expertise Inserm de 1999 rapportait que la vitesse d'élimination est très différente selon l'éther de glycol, certains métabolites présentant des temps de demi-vie de plusieurs heures (7 à 20 h), allant même jusqu'à 70 h chez l'homme. Les données récentes montrent que dans le cas du DEGEE, 90 % de la dose administrée chez le rat par voie orale est éliminée dans les 24 h, le métabolite majoritaire étant l'EEAA (acide éthoxyéthoxyacétique) et non le métabolite ultime EAA (acide éthoxyacétique). Ce type de donnée permet notamment d'orienter le choix du métabolite à doser au cours des études d'exposition ciblant les dérivés di- ou triéthyléniques.

BIBLIOGRAPHIE

BALLANTYNE B, JENSEN CB, WEAVER EV. Percutaneous toxicokinetic and repeated cutaneous contact studies with ethylene glycol monohexyl ether. *J Appl Toxicol* 2003, **23** : 301-314

BEN-BRIK E, JÉRÔME L, ARNAUD I, YOUS S, LABAT L, HAGUENOER JM, MULTIGNER L. Exposure to glycol ethers in a population of French men evaluated by measurement of urinary alkoxyacetic acids. *Int Arch Occup Environ Health* 2004, **77** : 368-372

BROOKE I, COCKER J, DELIC JI, PAYNE M, JONES K, et coll. Dermal uptake of solvents from the vapour phase: an experimental study in humans. *Ann Occup Hyg* 1998, **42** : 531-540

CARNEY EW, POTTENGER LH, JOHNSON KA, LIBERACKI AB, TORNESI B, et coll. Significance of 2-MPA formed from 2PG1ME : integration of pharmacokinetic and developmental toxicity assessments in rabbits. *Toxicol Sci* 2003, **71** : 217-228

CORLEY RA, GIES RA, WU H, WEITZ KK. Development of a physiologically based pharmacokinetic model for propylene glycol monomethyl ether and its acetate in rats and humans. *Toxicol letters* 2005a, **85** : 476-490

CORLEY RA, GRANT DM, FARRIS E, WEITZ KK, SOELBERG JJ, et coll. Determination of age and gender differences in biochemical processes affecting the disposition of 2-butoxyethanol and its metabolites in mice and rats to improve PBPK modeling. *Toxicol Letters* 2005b, **156** : 127-161

DESINGER PJ, BOATMAN RJ. *In vivo* metabolism and kinetics of ethylene glycol monobutyl ether and this metabolites, 2-butoxyacetaldehyde and 2-butoxyacetic acid, as measured in blood, liver and forestomach of mice. *Xenobiotica* 2004, **34** : 675-685

DILL JA, FUCIARELLI AF, LEE KM, MELLINGER KM, BURKA LT, ROYCROFT JH. Toxicokinetics of propylene glycol mono-t-butyl ether following intravenous of inhalation exposure in rats and mice. *Inhal Toxicol* 2004, **16** : 271-290

DOMRADZKI JY, BRZAK KA, THORNTON CM. Hydrolysis kinetics of propylene glycol monomethyl ether acetate in rats in vivo and in rat an human tissues in vitro. *Toxicol Sci* 2003, **75** : 31-39

GARGAS ML, TYLER TR, SWEENEY LM, CORLEY RA, WEITZ KK, et coll. A toxicokinetic study of inhaled ethylene glycol monomethyl ether (2-ME) and validation of a physiologically based pharmacokinetic model for the pregnant rat and human. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000a, **165** : 53-62

GARGAS ML, TYLER TR, SWEENEY LM, CORLEY RA, WEITZ KK, MAST TJ, et coll. A toxicokinetic study of inhaled ethylene glycol ethyl ether acetate and validation of a physiologically based pharmacokinetic model for rat and human. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000b, **165** : 63-73

GATTEFOSSÉ. ADME study of DEGEE in the rat, 2002, rapport non publié

GATTEFOSSÉ. Comparaison of *in vitro* metabolism of Transcutol (DEGEE) and ethylene glycol monoethyl ether (EGEE) by rat and human hepatocytes, 2003a, rapport non publié

GATTEFOSSÉ. Metabolite determination of ¹⁴C-DEGEE administered by oral route to rat, 2003b, rapport non publié

GATTEFOSSÉ. Étude *in vitro* du passage transcutané du Transcutol (DEGEE), 2004, rapport non publié

HAYS SM, ELSWICK BA, BLUMENTHAL GM, WELSCH F, CONOLLY RB, GARGAS ML. Development of a physiologically based pharmacokinetic model of 2-methoxyethanol and 2-methoxyacetic acid disposition in pregnant rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000, **163** : 67-74

INSERM. Éthers de glycol. Quels risques pour la santé? Collection Expertise Collective Inserm, Éditions Inserm, Paris, 1999 : 348p

JAKASA I, MOHAMMADI N, KRÜSE J, KEZIC S. Percutaneous absorption of neat and aqueous solutions of 2-butoxyethanol in volunteers. *Int Arch Occu Environ Health* 2004, **77** : 79-84

JONES K, COCKER J, DODD LJ, FRASER I. Factors affecting the extent of dermal absorption of solvent vapours: a human volunteer study. *Ann Occup Hyg* 2003, **47** : 145-150

LARESE FILON F, FIORITO A, ADAMI G, BARBIERI P, COCEANI N, et coll. Skin absorption *in vitro* of glycol ether. *Int Arch Occup Environ Health* 1999, **72** : 480-484

LOCKLEY DJ, HOWES D, WILLIAMS FM. Percutaneous penetration and metabolism of 2-ethoxyethanol. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002, **180** : 74-82

LOCKLEY DJ, HOWES D, WILLIAMS FM. Percutaneous penetration and metabolism of 2-butoxyethanol. *Arch Toxicol* 2004, **78** : 617-628

NTP. Toxicology and carcinogenesis studies 2-butoxyethanol (CAS NO.111-76-2) in F344/N rats and B6C3F1 mice (inhalation studies). *Natl Toxicol Program Techn Rep Ser* 2000, **484** : 1-290

POET TS, SOELBERG JJ, WEITZ KK, MASTE TJ, MILLER RA, et coll. Mode of action and pharmacokinetic studies of 2-butoxyethanol in the mouse with an emphasis on forestomach dosimetry. *Toxicol Sci* 2003, **71** : 176-189

ROPER CS, HOWES D, BLAIN PG, WILLIAM FM. A comparison of the absorption of a series of ethoxylates through rat skin *in vitro*. *Toxicol In Vitro* 1998, **12** : 57-65

SHIH TS, LIOU SH, CHEN CY, SMITH TJ. Urinary 2-methoxy acetic acid accumulation in response to 2-methoxy ethanol exposure. *Arch Env Health* 2001, **56** : 20-25

VENIER M, ADAMI G, LARESE F, MAINA G, RENZI N. Percutaneous absorption of 5 glycol ethers through human skin *in vitro*. *Toxicol In Vitro* 2004, **18** : 665-671

WILKINSON SC, WILLIAMS FM. Effects of experimental conditions on absorption of glycol ethers through human skin *in vitro*. *Int Arch Occup Environ Health* 2002, **75** : 519-527

2

Hématotoxicité et immunotoxicité

La première expertise collective Inserm (Inserm, 1999) sur les risques pour la santé liés à l'exposition aux éthers de glycol a décrit trois types d'effets hématotoxiques pour les substances de cette famille chimique :

- des effets hémolysants observés avec l'EGBE et son acétate, ainsi que, à un moindre degré, avec l'EGnPE, l'EGiPE, l'EGPhE, le DEGBE et leurs acétates ;
- une hypoplasie médullaire et des cytopénies périphériques, portant plus particulièrement sur les granulocytes, avec l'EGME, l'EGEE et leurs acétates, le DEGDME, ainsi que, à un moindre degré, avec l'EGnPE, le DEGME et leurs acétates ;
- un effet lymphopéniant, éventuellement associé à une immunosuppression, avec l'EGME, l'EGEE, le DEGME et leurs acétates, ainsi que, à un moindre degré, avec l'EGnPE et son acétate.

Le texte qui suit rappelle les informations présentées dans l'expertise Inserm de 1999 pour chacun de ces effets et décrit les données nouvelles acquises depuis.

Hémolyse

L'expertise collective réalisée par l'Inserm (1999) rapporte que l'EGBE et son acétate ont induit une hémolyse chez plusieurs espèces animales ; la souris, le rat, le lapin, le hamster, le babouin sont des espèces très sensibles à cet effet toxique alors que l'effet hémolysant est faible chez le chat, le chien, le cobaye, le porc et l'homme. L'hémolyse induite par l'EGBE et son acétate a été observée quelle que soit la voie d'administration. Chez le rat, les doses maximales sans effet (NOAEL : *no-observed adverse effect level*) par voies intraveineuse, orale et percutanée étaient respectivement de 62,5, 129 et 150 mg/kg. Pour cette espèce et probablement pour les autres, les animaux les plus âgés sont les plus sensibles à l'effet hémolysant. L'hémolyse induite par l'EGBE et son acétate est précédée par une sphérocytose, ce qui se traduit par une augmentation du volume globulaire moyen (VGM). Elle est associée à une déformation (stomatocytose) des hématies et à leur fragmen-

tation (schizocytose) ; elle produit des cellules fantômes (*ghost cells*), vidées de leur contenu. *In vivo*, quand elle est importante, elle peut s'accompagner d'une splénomégalie et d'une nécrose tubulaire rénale.

L'exposition répétée des animaux diminue leur sensibilité aux effets hémolytiques, probablement parce que les hématies les plus âgées sont les plus sensibles et qu'elles sont détruites dès les premières expositions, laissant la place à des cellules plus jeunes et plus résistantes.

Les données disponibles en 1999 (Inserm, 1999) montraient aussi que l'EGBE et son acétate n'étaient pas directement responsables de l'hémolyse observée. C'est leur principal métabolite, l'acide butoxyacétique (BAA), qui la provoque. La sensibilité des sujets âgés est augmentée du fait qu'ils éliminent moins bien le BAA. L'hémolyse induite par le BAA est précédée d'une déplétion en ATP des hématies, mais les données disponibles en 1999 ne permettaient pas d'expliquer précisément le mécanisme de l'hémolyse.

L'expertise collective de l'Inserm (1999) indiquait que des effets hémolytiques semblables à ceux décrits avec l'EGBE avaient également été observés expérimentalement avec le DEGBE, l'EGnPE, l'EGiPE et l'EGPhE. À doses égales, ces éthers de glycol avaient des effets moins marqués que ceux de l'EGBE sur les hématies. Le mécanisme de l'hémolyse était inconnu, dans tous les cas.

Les données cliniques et épidémiologiques analysées dans l'expertise collective Inserm (1999) confirmaient la faible sensibilité de l'espèce humaine aux effets hémolytiques de l'EGBE. Les quelques cas d'hémolyse intravasculaire qui avaient fait l'objet de publications avaient tous fait suite à l'ingestion accidentelle ou volontaire de plusieurs dizaines ou plusieurs centaines de millilitres du solvant.

En revanche, aucune toxicité hématologique significative n'avait été rapportée chez les travailleurs exposés. En comparant les hémogrammes de 31 travailleurs exposés à l'EGBE et de 21 témoins, une équipe belge (Haufrond et coll., 1997) avait observé une diminution discrète (3,3 %), mais statistiquement significative, de l'hématocrite chez les sujets exposés ; ces derniers présentaient aussi une augmentation minimale (2,1 %), mais également significative, du VGM.

Aucun effet hémolytique n'a été rapporté chez l'homme avec les autres éthers de glycol.

Des données nouvelles issues d'études expérimentales concernent l'EGBE, le DEGBE, l'EGiPE, l'EGPhE et le TEGDME ; quant aux données nouvelles en clinique et épidémiologie, elles concernent toutes l'EGBE.

EGBE

14 Une dizaine d'études nouvelles ont précisé les effets hématotoxiques de l'EGBE. Dans une série d'expérimentations conduites chez le rat, deux équipes

(Nyska et coll., 1999a et b ; Ghanayem et coll., 2000 ; Long et coll., 2000 ; Udden, 2000 ; Ghanayem et coll., 2001 ; Ezov et coll., 2002 ; Koshkaryev et coll., 2003 ; Nyska et coll., 2003 ; Redlich et coll., 2004 ; Shabat et coll., 2004) ont étudié les effets hémolysant et procoagulant de cet éther de glycol. Ces études sont résumées dans le tableau 2.I.

Les nouvelles données obtenues permettent de préciser l'histoire naturelle de l'hémolyse induite par l'EGBE : elle est précédée par une diminution de la plasticité des hématies, par leur gonflement (augmentation du VGM, sphérocytose) et leur déformation (stomatocytose). La fragmentation et la destruction des cellules circulantes produisent des schizocytes et des cellules fantômes (*ghost cells*) (Nyska et coll., 1999a et b ; Ghanayem et coll., 2000 ; Udden, 2000 ; Ghanayem et coll., 2001 ; Ezov et coll., 2002). Les complications de l'hémolyse induite par l'EGBE (Nyska et coll., 1999a et b ; Ghanayem et coll., 2000 ; Long et coll., 2000 ; Ghanayem et coll., 2001 ; Ezov et coll., 2002 ; Redlich et coll., 2004 ; Shabat et coll., 2004) sont celles rapportées dans toutes les maladies responsables d'hémolyse intravasculaire aiguë :

- coagulation intravasculaire disséminée, responsable de thrombi et d'infarctus dans de nombreux tissus et organes ;
- précipitation d'hémoglobine dans les tubules rénaux entraînant une nécrose tubulaire ;
- apparition de foyers d'hématopoïèse extra-médullaires et en particulier spléniques.

L'hémolyse induite par l'EGBE ne se distingue pas, dans ses manifestations et ses complications, de celle observée dans les hémoglobinopathies responsables d'accidents hémolytiques aigus (Udden 2000 ; Ghanayem et coll., 2001 ; Ezov et coll., 2002 ; Redlich et coll., 2004). En conséquence, les travaux publiés au cours des dernières années ont permis de faire de l'hémolyse induite par l'EGBE chez le rat un modèle d'étude des accidents hémolytiques aigus et subaigus. Les informations déjà obtenues, grâce à ce modèle, apportent un début d'explication aux effets procoagulants observés et indiquent un mécanisme multifactoriel : la diminution de la déformabilité des hématies et l'augmentation du volume globulaire y jouent un rôle certainement important (Udden, 2002), mais d'autres phénomènes sont impliqués tels que l'augmentation de l'adhésion à l'endothélium vasculaire résultant de la libération de médiateurs par les cellules endothéliales anoxiques, et la mise en circulation de facteurs d'agrégation par les plaquettes (Koshkaryev et coll., 2003 ; Nyska et coll., 2003).

Le responsable de l'hémolyse n'est pas l'EGBE lui-même, mais son métabolite le BAA. L'homme est une espèce très peu sensible aux effets hémolytiques du BAA, environ 100 fois moins que le rat dans l'étude *in vitro* de Udden (2002).

Chez le rat, les femelles sont plus sensibles que les mâles à l'hémolyse induite par l'administration d'EGBE (Nyska et coll., 1999b ; Ghanayem et coll.,

2000 ; Ghanayem et coll., 2001 ; Ezov et coll., 2002 ; Shabat et coll., 2004). Cette plus grande susceptibilité n'est pas due à une sensibilité accrue aux effets hémolytiques du BAA. Elle résulte probablement de facteurs toxicocinétiques : d'une part, l'activité des aldéhyde déshydrogénases responsables de la production de BAA est plus élevée chez les femelles (Aasmoe et coll., 1998) et d'autre part, celles-ci éliminent plus lentement ce métabolite responsable des effets toxiques de l'EGBE (Dill et coll., 1998).

Le mode d'action du BAA n'est pas encore parfaitement élucidé, mais il est établi qu'il augmente l'entrée du sodium dans les hématies ; cette entrée n'est pas compensée par une sortie équivalente de potassium. Le mode d'action du BAA s'accompagne également d'une entrée d'eau et de calcium. Les mouvements liquidiens vont entraîner l'augmentation du volume globulaire et *in fine*, l'hémolyse. L'entrée de calcium pourrait avoir un rôle protecteur transitoire en activant la sortie de potassium (Udden, 2002 ; Udden et Patton, 2005).

Depuis 1999, seulement 4 publications ont rapporté des intoxications par l'EGBE. Aucune ne décrit d'effet hématotoxique.

L'observation de McKinney et coll. (2000) avait déjà fait l'objet d'un exposé dans un congrès et était présentée dans l'expertise collective Inserm (1999) : une femme de 51 ans a eu des troubles de conscience, des vomissements, une hypotension et une acidose métabolique hyperchlorémique après une prise de 24 à 72 g d'EGBE associé à de l'isopropanol. Aucune hémolyse n'a été observée. La malade a été traitée symptomatiquement et par l'administration d'éthanol. Elle a guéri sans séquelle.

L'observation de Gualideri et coll. (2003) avait également été présentée à un congrès avant 1999 et était commentée dans la précédente expertise (Inserm, 1999). Un homme de 18 ans a ingéré successivement à 10 jours d'intervalle 79 à 106 g, puis 106 g d'EGBE. Au cours du premier épisode, des troubles de conscience, une acidose métabolique, une élévation modérée de l'activité des transaminases et de la bilirubinémie libre (sans signe franc d'hémolyse) ont été observés ; un traitement par hémodialyse et administration d'éthanol a permis une guérison complète en 60 h. Après la deuxième ingestion d'EGBE, la prise en charge a été très précoce : l'hémodialyse et le traitement par éthanol ont prévenu la survenue de tout symptôme.

Osterhoudt (2002) a rapporté la survenue de troubles de conscience et d'une acidose métabolique rapidement corrigée par l'administration de fomépizole chez une enfant de 16 mois, après la prise d'une dose inconnue d'EGBE associé à de l'éthanolamine et de la potasse. Aucune hémolyse et aucune brûlure chimique du tractus digestif n'ont été signalées bien que les substances associées à l'EGBE dans ce cas soient corrosives ou fortement irritantes.

Une équipe française a publié un cas de glomérulopathie avec mésangiolyse chez un homme de 53 ans professionnellement exposé à une préparation contenant de l'EGBE (Daniel et coll., 2004). Aucun argument chronologi-

que ou sémiologique en faveur d'un lien causal entre cette exposition et l'atteinte rénale n'est présenté par les auteurs.

Il n'y a pas eu, depuis 1999, d'étude épidémiologique publiée sur des effets de l'exposition à l'EGBE ou à d'autres éthers de glycol pour lesquels un effet hémolysant a été rapporté expérimentalement.

DEGBE

L'administration orale de 3 564 mg/kg/j de DEGBE à des rats, 5 jours par semaine et pendant 6 semaines, a induit une altération de l'état général, une diminution de la prise de poids et une hémolyse (Boatman et Knaak, 2001).

Des rats F344 ont reçu 0, 1 000, 1 500 ou 2 000 mg/kg/j de DEGBE, pendant deux semaines dans leur eau de boisson, ou bien, selon le même protocole, 0, 50, 250 ou 1 000 mg/kg/j de cet éther de glycol (Johnson et coll., 2005). Dans les deux protocoles de cette étude, des diminutions modérées mais significatives du taux d'hémoglobine, du compte des hématies et de l'hématocrite ont été observées, à partir de 250 mg/kg/j pour les deux premiers paramètres, à partir de 1 000 mg/kg/j pour l'hématocrite.

Le DEGBE est principalement métabolisé en acide butoxyéthoxyacétique (BEAA). Une étude récente a évalué, *in vitro*, la toxicité du DEGBE et du BEAA pour les hématies de rat (Udden, 2005). Ces dernières ont été incubées pendant 4 h avec des solutions de 0,5 ou 10 mM de l'une ou l'autre de ces deux substances. Aucun effet n'a été observé avec le DEGBE, mais le BEAA a induit une augmentation du VGM, une sphérocytose, une diminution de la déformabilité des hématies et une hémolyse (modérée), dépendantes de la dose. Dans les mêmes conditions, aucun effet n'a été observé pour des hématies humaines. Au total, les effets hématotoxiques du DEGBE sont semblables à ceux de l'EGBE, mais ils sont moins marqués. Le DEGBE n'est pas directement responsable de ces effets : son principal métabolite, le BEAA, peut au moins partiellement les expliquer. Il ne peut être exclu que le métabolisme du DEGBE entraîne aussi la formation de BAA, mais dans un tel cas les quantités produites seraient très faibles. Le pouvoir hémolysant du BEAA sur les hématies humaines est certainement très faible, si tant est qu'il soit décelable.

EGiPE et EGPhE

L'injection sous-cutanée d'EGiPE (0, 0,625, 1,25 ou 2,5 mmol/kg) ou d'EGPhE (0, 2,5, 5 ou 10 mmol/kg) a induit une augmentation du VGM et une hémolyse dépendantes de la dose chez le rat (Starek et coll., 2004). Dans cette étude, l'effet hémolysant de l'EGiPE était environ 10 fois plus important que celui de l'EGPhE.

TEGDME

Des rats ont reçu des doses de 0, 62,5, 250 ou 1 000 mg/kg/j de TEGDME dans leur alimentation pendant 28 jours (Hoechst, 1992). Il n'a pas été observé de diminution du compte des hématies ou d'augmentation de la bilirubinémie.

Toxicité pour la moelle osseuse

L'expertise collective de l'Inserm (1999) rapportait que les dérivés alkylés à chaîne courte, en particulier les dérivés méthylés, de l'éthylène glycol et du diéthylène glycol induisaient expérimentalement une hypoplasie médullaire, avec diminution des progéniteurs, principalement de ceux des granulocytes et de la lignée rouge, responsable de cytopénies périphériques (leucopénie, neutropénie, anémie). En pratique, un effet dépresseur médullaire a été observé avec l'EGME, l'EGEE, l'EGnPE, le DEGME (et/ou leurs acétates) et avec le DEGDME, dans toutes les espèces où il a été recherché. C'est un effet dépendant de la dose, d'autant plus marqué que la chaîne alkylée est plus courte (EGME > EGEE > EGNPE). Ces effets hématotoxiques sont probablement médiés par les alcoxyacétaldéhydes et les acides alcoxyacétiques correspondants. Ils pourraient résulter d'une inhibition de la synthèse des bases puriques et pyrimidiques et en conséquence, de celle des acides nucléiques, ou de l'induction d'anomalies du fuseau mitotique, ou encore de la formation de ponts intercaténaux dans l'ADN.

D'assez nombreux cas de cytopénies sanguines d'origine centrale ont été rapportés chez des travailleurs exposés à l'EGME, l'EGEE ou leurs acétates, avant 1999 (Inserm, 1999). De même, l'expertise de 1999 rapportait les résultats de plusieurs études transversales qui montraient une prévalence élevée de cytopénies et/ou des comptes significativement diminués des éléments figurés du sang chez des travailleurs exposés à l'EGME, l'EGEE ou leurs acétates, comparés à des témoins.

Des données nouvelles d'études expérimentales sont présentées pour l'EGME, le DEGDME et le TEGDME et des résultats d'études cliniques et épidémiologiques pour l'EGME et l'EGEE.

EGME

Takagi et coll. (2002) ont incubé des cellules médullaires humaines et des cellules issues d'une lignée de leucémie humaine (HL60) avec de l'EGME ou l'un de ses deux principaux métabolites, le méthoxyacétaldéhyde (MALD) ou l'acide méthoxyacétique (MAA). Aucun effet cytotoxique n'a été observé avec l'EGME (≤ 10 mM). Les concentrations de MALD et de MAA

entraînant une inhibition de 50 % (IC 50) de la formation des colonies étaient respectivement de 3 et 3,9 mM pour les cellules médullaires, et de 2,45 et 5,6 mM pour les cellules HL60. La formation d'échelles d'ADN caractéristique de l'apoptose a été observée dans les cellules HL60 traitées par le MALD. De même, l'incubation dans le MALD induisait l'activité de la capsase-3, enzyme impliquée dans le processus apoptotique. Cette étude confirme que ce sont le MAA et/ou le MALD, plutôt que l'EGME, qui sont responsables des effets hématotoxiques de ce dernier. Elle apporte plusieurs arguments en faveur d'un mécanisme apoptotique de l'atteinte médullaire.

Deux études épidémiologiques conduites en Asie du Sud-Est ont confirmé la toxicité hématologique de l'EGME. Elles sont rapportées ci-dessous et résumées dans le tableau 2.II.

Une étude a été conduite à Taïwan dans une usine de fabrication de stratifiés plaqués cuivre. Quarante sept hommes et 6 femmes directement exposés à l'EGME ont été comparés à 93 hommes et 28 femmes indirectement exposés (Shih et coll., 2000). Au niveau des postes de travail (individus directement exposés), la concentration atmosphérique moyenne d'EGME était de 3,98 ppm alors qu'elle était de 0,28 ppm pour les individus indirectement exposés. Quant à la concentration urinaire d'acide méthoxyacétique, elle était respectivement de 19,95 mg/g de créatinine et inférieure à 1,26 mg/g de créatinine pour les individus directement exposés et ceux qu'ils l'étaient indirectement. Une diminution du taux d'hémoglobine, de l'hématocrite et du compte des hématies a été observée chez les hommes ; ces trois paramètres étaient corrélés négativement à la mesure de MAA ($p < 0,001$) ainsi qu'à la concentration atmosphérique d'EGME au poste de travail pour le dernier ($p = 0,004$). La fréquence de l'anémie (hémoglobine $< 13,5$ g/dl) était de 26,1 % chez les hommes exposés et 3,2 % chez les non-exposés ($p < 0,0001$) ; de même, les valeurs anormalement basses de l'hématocrite (< 40 %) et du compte des hématies ($< 4\,500\,000/\mu\text{l}$) étaient plus fréquentes chez les hommes exposés ($p < 0,0001$) que chez les non-exposés. Aucun effet de l'exposition n'a été observé sur les autres lignées sanguines. Aucun effet significatif n'a été constaté chez les femmes exposées, mais compte tenu du faible nombre d'individus concernés, ce résultat est difficilement interprétable.

Dans la même entreprise que précédemment, une politique de réduction des expositions à l'EGME a été mise en place en parallèle à un suivi des paramètres hématologiques (Shih et coll., 2003). Trois campagnes de mesure ont eu lieu successivement en février, avril et août 1997. Les concentrations moyennes d'EGME dans l'air étaient respectivement de 9,62 ppm, 2,34 ppm et 0,34 ppm et les concentrations urinaires de MAA étaient de 51 mg/g de créatinine, 20 mg/g puis 7 mg/g chez 29 employés (24 hommes, 5 femmes) directement exposés. Un groupe de 90 employés (67 hommes, 23 femmes) indirectement exposés a été constitué. Les niveaux d'exposition de base étaient de 0,08 ppm d'EGME dans l'atmosphère et de 0,53 mg/g de créatinine pour la concentration urinaire de MAA. Les associations trouvées lors

de l'examen initial sont semblables à celles rapportées dans l'étude précédente (Shih et coll., 2000). Les paramètres hématologiques sont revenus à la normale en avril (2,5 mois plus tard) après une réduction des expositions et étaient stables à l'évaluation suivante, en août. Sous réserve que la réduction des expositions ait porté essentiellement sur l'EGME, cette étude apporte une preuve supplémentaire des effets hématotoxiques potentiels de l'EGME.

DEGDME

Des groupes de 20 rats mâles et 10 rats femelles ont été exposés, par le museau seulement, à des concentrations atmosphériques de 0, 110, 370 ou 1 100 ppm de DEGDME, ou à une concentration de 300 ppm d'EGME (témoin positif), 6 h par jour, 5 jours par semaine et pendant deux semaines (Valentine et coll., 1999). Une anémie (diminution du compte des hématies, du taux d'hémoglobine et de l'hématocrite) et une leucopénie (due à une lymphopénie, une monocytopenie et une neutropénie) ont été observées chez les mâles et les femelles traités par 1 100 ppm de DEGDME ou 300 ppm d'EGME. Une thrombopénie a été constatée dans les mêmes groupes et chez les mâles traités par 370 ppm de DEGDME. Tous ces troubles ont été régressifs à l'arrêt de l'exposition. Ces anomalies périphériques s'accompagnaient d'une atteinte de la moelle osseuse qui était hypoplasique et d'une atrophie des tissus lymphoïdes splénique et thymique chez les animaux traités par 1 100 ppm de DEGDME ou 300 ppm d'EGME. Ces signes de toxicité hématologique étaient associés, chez les mâles, à des lésions des testicules, des vésicules séminales, de l'épididyme et de la prostate ; une atteinte testiculaire était décelable dès 110 ppm.

TEGDME

Des rats ont reçu des doses de 0, 62,5, 250 ou 1 000 mg/kg/j de TEGDME dans leur alimentation pendant 28 jours (Hoechst, 1992). À la plus forte dose, une diminution du compte des plaquettes a été observée chez les deux sexes et une diminution de celui des leucocytes s'est produite chez les mâles seulement.

EGEE

Des données de nature épidémiologique, provenant d'études conduites en Asie du Sud-Est, sont rapportées ci-dessous et résumées dans le tableau 2.II.

Dans une entreprise fabriquant des semi-conducteurs à Taïwan, une évaluation globale de l'état de santé des 926 employés a été conduite en 1995.

20 Cent quatre vingt employés de fabrication (96 hommes, 84 femmes) sur les

208 présents et 47 tirés au sort (18 hommes, 29 femmes) parmi les 718 employés hors-fabrication ont été inclus dans une évaluation des paramètres sanguins hématologiques, hépatiques et rénaux (Luo et coll., 2002). Une diminution significative du compte des leucocytes a été observée chez les hommes travaillant dans les secteurs de la photolithographie ($p = 0,003$) et de l'implantation ($p = 0,018$), comparés aux sujets non exposés ; de même, la prévalence de la leucopénie était augmentée dans le secteur de la photolithographie. Aucun autre paramètre hématologique n'était altéré. Aucune information n'est donnée sur les niveaux d'exposition aux éthers de glycol ni collectivement ni individuellement. Des éthers de glycol hématotoxiques sont, ou ont été utilisés dans les secteurs impliqués ici, en particulier l'EGEE et l'EGEEA, mais aussi d'autres agents potentiellement hématotoxiques, tels que l'arsenic ou des sources de rayonnements ionisants.

Les 29 employés (17 hommes et 12 femmes) directement exposés à l'EGEEA dans l'atelier d'impression d'une entreprise de sérigraphie taïwanaise ont été comparés à une population de témoins indirectement exposés, constituée des 56 autres salariés (29 hommes et 27 femmes) de l'entreprise (Loh et coll., 2003). L'EGEEA était le solvant de nettoyage employé dans l'atelier qui en consommait environ 1 000 kg par mois. Les concentrations atmosphériques moyennes d'EGEEA étaient respectivement de 4,87 ppm, 9,34 ppm et 0,07 ppm, pour les hommes de l'atelier d'impression, les femmes du même atelier et les témoins. Le taux d'hémoglobine et l'hématocrite des femmes exposées étaient significativement plus faibles que ceux des femmes du groupe témoin. Aucune différence significative n'a été observée pour ces paramètres, chez les hommes, entre les groupes témoin et exposé. Il n'a pas été noté de différence entre témoins et exposés pour les comptes des hématies, des leucocytes et des plaquettes. La corrélation entre divers paramètres de l'héмограмme et l'exposition individuelle à l'EGEEA a été étudiée chez 36 salariés dont les auteurs n'indiquent pas comment ils ont été sélectionnés. Le taux d'hémoglobine, l'hématocrite et le compte des hématies (mais pas ceux des leucocytes et des plaquettes) étaient corrélés négativement à la concentration atmosphérique d'EGEEA après ajustement sur le sexe, l'indice de masse corporelle et le niveau d'études.

Trente deux femmes, employées de deux entreprises chinoises fabriquant des plaques photosensibles et exposées à l'EGEE qu'elles utilisaient comme diluant de peintures, ont été comparées à 20 témoins appariés sur le sexe, l'âge, le tabagisme et la consommation d'alcool (Wang et coll., 2004). La concentration atmosphérique d'EGEE était en moyenne de 6,44 ppm pour le groupe exposé et de 0,56 ppm pour le groupe témoin. Les concentrations urinaires moyennes d'acide éthoxyacétique (EAA) étaient respectivement de 120,87 et 2,21 mg/g de créatinine dans le groupe exposé et le groupe témoin. Aucune différence des taux d'hémoglobine, des comptes des hématies ou de ceux des leucocytes n'a été constatée entre les deux groupes. Deux femmes du groupe exposé avaient une anémie, caractérisée par un compte des héma-

ties et un taux d'hémoglobine inférieurs à la limite des valeurs considérées comme normales.

Toxicité pour les organes lymphoïdes et immunotoxicité

L'expertise collective de l'Inserm (1999) rapportait des effets lymphopéniant et/ou immunotoxique de plusieurs éthers de glycol, dérivés alkylés à chaînes courtes de l'éthylène glycol et du diéthylène glycol (EGME, EGEE, DEGME et leurs acétates). L'atteinte des organes lymphoïdes a été décrite chez plusieurs espèces animales ; elle est dépendante de la dose. L'atrophie thymique s'exerce principalement aux dépens des lymphocytes T du cortex, tandis que l'atteinte splénique se traduit principalement par une diminution des lymphocytes CD4+. Sur le plan fonctionnel, une diminution de la production d'anticorps en réponse à des stimuli antigéniques a été observée, de même qu'une diminution des réponses mitogènes et de la production d'interleukine-2 dans les splénocytes. Aucun déficit de la fonction NK n'est décelable. Il est établi que les effets immunosuppresseurs des éthers de glycol sont médiés par les acides alcoxyacétiques correspondants.

Quelques cas de lymphopénie chez des travailleurs exposés à des éthers de glycol ont été rapportés avant 1999 (Inserm, 1999). En 1986, Denkhaus et coll. avaient observé une diminution des lymphocytes CD4 et CD11, sans modification des lymphocytes CD8 et avec une augmentation des cellules NK, chez des parqueteurs exposés à divers solvants dont l'EGME, l'EGEE et l'EGBE.

Des données nouvelles issues d'études expérimentales ont été recensées pour l'EGME, l'EGBE, l'EGPhE, le DEGME et le TEGDME. Depuis l'expertise de 1999, il n'y a pas eu de publication rapportant des observations de cas cliniques ou une étude épidémiologique sur les effets immunotoxiques des éthers de glycol.

EGME

Ju et coll. (1998) ont évalué l'immunotoxicité de l'EGME et de ses deux principaux métabolites, le méthoxyacétaldéhyde (MALD) et l'acide méthoxyacétique (MAA), dans des cultures de cellules sanguines mononucléaires périphériques humaines. Les concentrations testées étaient : 0, 10, 20, 30, 40 et 50 mM pour l'EGME ; 0, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 et 0,5 mM pour le MALD ; 0, 0,4, 1, 2 et 5 mM pour le MAA. Une diminution dose-dépendante de la production d'IgM par les cellules en culture a été observée avec les trois substances. C'est avec le MALD que cet effet était le plus marqué (MALD > MAA >> EGME). Les trois substances ont également diminué la réponse lymphoproliférative induite par la concanavaleine A ; cet effet était

dépendant de la dose et plus marqué avec le MALD et le MAA qu'avec l'EGME (MALD > MAA >> EGME). Le MALD et le MAA avaient des effets cytotoxiques (diminution de la viabilité des cultures) : aux deux plus fortes concentrations pour le MALD, à la plus forte pour le MAA. Cet effet n'a pas été observé avec l'EGME. Les trois substances provoquaient une fragmentation de l'ADN caractéristique d'un phénomène apoptotique ; cet effet s'aggravait avec l'augmentation du temps d'incubation et il était plus précoce avec le MALD et le MAA qu'avec l'EGME. De même, le traitement avec l'une ou l'autre des trois substances entraînait une augmentation de la concentration intracellulaire de calcium, ce qui est également en faveur d'un mécanisme apoptotique des effets immunotoxiques et cytotoxiques ; de nouveau, c'est avec le MALD que ce phénomène était le plus marqué.

EGBE

Une équipe américaine a étudié *in vivo* l'immunotoxicité de l'application cutanée d'EGBE chez la souris. Dans une première série d'expérimentations (Singh et coll., 2001), des souris BALB/c ont reçu des applications cutanées de 100, 500, 1 000 ou 1 500 mg/kg/j d'EGBE pendant 4 jours. Des effets immunotoxiques étaient recherchés 24 h après la dernière dose. Aucune modification de la taille ou de la cellularité du thymus n'a été notée. Une augmentation du poids et de la cellularité de la rate à la plus forte dose était observée, ce qui résultait probablement de l'effet hémolysant de l'EGBE. Les réponses lymphoprolifératives des cellules spléniques à la concanavaline A et à un antigène allogène étaient diminuées après le traitement par les trois plus fortes doses d'EGBE, mais dans les deux cas, cette diminution n'était significative qu'aux deux doses intermédiaires. Aucune modification de la prolifération des lymphocytes B spléniques n'a été induite par les liposaccharides, ni de la production d'anticorps induite par l'addition aux splénocytes en culture d'hématies de mouton. Il n'a pas été observé de modification des activités cytotoxiques des cellules NK ou des lymphocytes T spléniques. Les auteurs concluent que dans cette série d'expérimentations, l'EGBE est sans effet sur l'immunité dépendante des lymphocytes B, mais qu'il a un effet suppresseur de certains aspects de l'immunité dépendante des cellules T. Cependant, l'absence de relation dose-effet nette dans les deux essais dont les résultats sont positifs incite à une interprétation prudente des résultats obtenus.

Dans une deuxième série d'essais, la même équipe a recherché un effet modulateur de l'EGBE sur la sensibilisation et la réponse allergique de contact (Singh et coll., 2002). Des souris BALB/c ont été sensibilisées à l'oxazolone. L'EGBE était administré par voie orale ou appliqué localement : les doses administrées oralement étaient de 0, 50, 150 ou 400 mg/kg/j pendant 10 jours, la sensibilisation à l'oxazolone étant réalisée le 5^e ou le 10^e jour du traitement ; le traitement topique utilisait des doses de 0, 0,25, 1, 4 ou 16 mg appliquées sur la peau, sur le même site que l'oxazolone et immédiatement

après cette dernière au moment de la sensibilisation, ou encore 0, 1, 3, 6 ou 10 h après au moment du déclenchement de la réponse allergique. L'administration orale d'EGBE n'a pas modifié la sensibilisation et la réponse à l'allergène. L'application locale de 4 mg de l'éther de glycol au moment de la sensibilisation, du déclenchement de la réponse ou des deux, a été suivie d'une diminution de la réponse locale à l'allergène d'environ 20 % dans tous les cas. Aucun effet n'a été observé au moment du déclenchement de la réponse quand la même dose était appliquée 1 h ou plus après l'oxazalone. De même, le traitement local par l'EGBE n'a pas modifié la réponse à l'allergène aux autres doses (y compris à plus forte dose), quel que soit le protocole employé. L'application locale d'acide butoxyacétique (BAA : 2, 4 ou 8 mg) au lieu d'EGBE était sans effet. Le prétraitement des animaux par le 4-méthylpyrazole (inhibiteur de l'alcool déshydrogénase qui catalyse la transformation de l'EGBE en BALD) a augmenté l'inhibition de la réponse observée après application locale de 4 mg d'EGBE. Les auteurs concluent à un effet immunosuppresseur de l'application locale d'EGBE qui serait imputable au produit inchangé plutôt qu'à ses métabolites. Leurs résultats doivent cependant être interprétés avec prudence, en raison de l'absence de relation dose-effet. L'incubation de cellules épidermiques de souris dans des solutions aqueuses d'EGBE (10^{-12} , 10^{-10} , 10^{-8} , 10^{-6} , 10^{-4} M) n'a pas modifié l'expression des antigènes de surface de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité ou la synthèse protéique dans les cellules de Langerhans (Singh et coll., 2002).

EGPhE

Une équipe espagnole a étudié les effets immunomodulateurs de l'EGPhE chez la daurade. L'ajout d'EGPhE à l'eau de l'aquarium (1,6 mM) a induit une narcose, une diminution de l'activité du complément et de l'activité phagocytaire des leucocytes chez les animaux traités (Ortuno et coll., 2002a). L'ajout de benzocaïne dans l'aquarium a les mêmes effets. Des daurades placées dans un aquarium surpeuplé ou non ont été traitées par ajout d'EGPhE dans l'aquarium à concentration sédatrice (60 µl/l) ou narcotique (120 µl/l). Le surpeuplement a augmenté la glycémie et la cortisolémie des animaux, ce qui est un signe de stress ; il a diminué l'activité du complément et l'activité phagocytaire des leucocytes (Ortuno et coll., 2002b ; Ortuno et coll., 2002c). Le traitement par l'EGPhE a eu des effets semblables. Les effets immunodépresseurs du traitement par l'éther de glycol ne semblent donc pas traduire un effet spécifique, mais plutôt le stress de l'anesthésie.

DEGDME

Dans une étude déjà citée (Valentine et coll., 1999), des groupes de 20 rats mâles et 10 rats femelles ont été exposés, par le museau seulement, à des concentrations atmosphériques de 0, 110, 370 ou 1 100 ppm de DEGDME,

ou à une concentration de 300 ppm d'EGME (témoin positif), 6 h par jour, 5 jours par semaine et pendant deux semaines. Une lymphopénie a été observée chez les mâles et les femelles traités par 1 100 ppm de DEGDME ou 300 ppm d'EGME. Cette anomalie périphérique s'accompagnait d'une atrophie des tissus lymphoïdes splénique et thymique.

TEGDME

Des rats ont reçu des doses de 0, 62,5, 250 ou 1 000 mg/kg/j de TEGDME dans leur alimentation pendant 28 jours. À la plus forte dose, une diminution du compte des leucocytes a été observée chez les mâles ; le poids du thymus était diminué et histologiquement, des signes d'atrophie liés au traitement y ont été observés (Hoechst, 1992).

En conclusion, les données publiées depuis 1999 ne modifient pas fondamentalement notre connaissance des effets hématotoxiques des éthers de glycol. Elles apportent quelques informations complémentaires utiles.

Ces données confirment le caractère hémolysant de l'EGBE chez le rat et précisent l'histoire naturelle des accidents hémolytiques : ils sont précédés par une diminution de la plasticité des hématies, leur déformation (sphérocytose, stomatocytose) et une augmentation du volume globulaire. Quand l'hémolyse est importante, elle se complique d'une coagulation intravasculaire responsable de thromboses et d'infarctus disséminés, de précipitation d'hémoglobine dans les tubules rénaux entraînant une nécrose tubulaire et de l'apparition de foyers d'hématopoïèse extra-médullaires. L'hémolyse induite par l'EGBE chez le rat n'a, en fait, aucun caractère spécifique et des phénomènes exactement semblables sont observés au cours de toutes les maladies hémolysantes, dont elle constitue un bon modèle animal. L'utilisation de ce modèle a déjà permis une meilleure compréhension des effets procoagulants des accidents hémolytiques. Par ailleurs, les publications récentes confirment que c'est le BAA, principal métabolite de l'EGBE, qui est responsable de l'hémolyse. Les hématies humaines sont très résistantes aux effets hémolysants du BAA. Chez le rat, les femelles sont plus sensibles que les mâles aux effets de l'EGBE, mais cette particularité ne traduit pas une plus grande fragilité de leurs hématies : elle résulte de différences toxicocinétiques entre les deux sexes. Le mécanisme des effets de l'EGBE sur les hématies n'est pas encore parfaitement élucidé, mais le *primum movens* semble une entrée accrue de sodium et d'eau.

Des données récemment publiées confirment aussi la capacité de l'EGiPE, de l'EGPhE et du DEGBE d'induire une hémolyse. Le pouvoir hémolysant de ces trois substances est toutefois moins marqué que celui de l'EGBE, et celui de l'EGiPE est beaucoup plus important que ceux de l'EGPhE et du DEGBE. Une étude *in vitro* a montré que l'hémolyse induite par ce dernier

était probablement due à son principal métabolite, l'acide butoxyéthoxyacétique (BEAA). Les hématies humaines sont très peu sensibles à l'effet hémolyse du BEAA.

De nouvelles études épidémiologiques ont confirmé l'effet hypoplasiant médullaire de l'EGME, l'EGEE et l'EGEEA, en montrant un excès de risque de cytopénies périphériques corrélé à l'exposition chez les travailleurs de divers secteurs d'activité. Une étude expérimentale établit l'hématotoxicité du TEGDME chez le rat : chez cette espèce, l'administration répétée de fortes doses de l'éther de glycol a induit des diminutions des comptes des plaquettes et des leucocytes, ainsi qu'une atteinte thymique. Une autre étude récente conduite chez le rat confirme l'effet hypoplasiant du DEGDME au niveau de la moelle osseuse et établit sa toxicité pour les organes lymphoïdes.

Deux études expérimentales ont confirmé que la toxicité de l'EGME pour la moelle osseuse et pour les organes lymphoïdes était médiée par ses deux principaux métabolites, l'acide méthoxyacétique (MAA) et surtout, le méthoxyacétaldéhyde (MALD) ; elles ont apporté des arguments en faveur d'un mécanisme apoptotique de l'atteinte des cellules souches.

Tableau 2.1 : Effets hémolytiques et procoagulant de l'EGBE (données expérimentales)

Références	Modèle expérimental	Protocole administration EGBE	Résultats	Commentaires
Nyska et coll., 1999a	Rats F344/N 10 M et 10 F par groupe	0, 31, 62,5, 125, 250 ou 500 ppm 6 h/j x 5 j/sem x 13 sem	À 500 ppm, 4 rats (F) moribonds sacrifiés à J4 : thromboses disséminées et nécroses osseuses ischémiques Pas de thrombose chez les rats (F) à 500 ppm, sacrifiés ultérieurement, mais signes d'infarctus ischémique ancien au niveau des vertèbres coccygiennes Pas de thrombose ou de signe d'infarctus chez les rats (M) à 500 ppm et chez les deux sexes aux doses inférieures Thrombi et infarctus dans de nombreux organes Thrombi et hémorragies de la rétine et des corps ciliaires	Sphérocytose (augmentation VGM, diminution déformabilité des hématies) et hémolyse probablement à l'origine des thromboses Thrombi : responsables des infarctus osseux Femelles plus sensibles que les mâles aux effets procoagulants de l'EGBE, parce qu'elles sont également plus sensibles aux effets hémolytiques dont ils sont la conséquence
Nyska et coll., 1999b	Rats F344 8 F par groupe	0 ou 250 mg/kg/j x 3 j, par gavage Sacrificés, 24 h après dernière dose	Anémie normochrome, macrocytaire, dose-dépendante chez tous les animaux traités À 500 ppm, 4 rates moribondes sacrifiées à J4 : thromboses multifocales de la pulpe des dents, infarctus pulpaire et nécrose des odontoblastes chez 3 d'entre elles Pas de thrombi chez les rates exposées à 500 ppm, mais sacrifiées à la 13 ^e semaine Pas d'anomalie dentaire aux doses inférieures	L'absence de lésion chez les animaux sacrifiés à la 13 ^e semaine, y compris chez ceux exposés à 500 ppm traduit probablement une tolérance aux effets hémolytiques de l'EGBE
Long et coll., 2000	Rats F344/N 10 F par groupe	0, 31, 62,5, 125, 250 ou 500 ppm 6 h/j x 5 j/sem x 13 sem		

Tableau 2.I (suite)

Références	Modèle expérimental	Protocole administration EGBE	Résultats	Commentaires
Ghanayem et coll., 2000	Rats F344/N F et M ; 3 à 10 animaux par groupe	0 ou 250 mg/kg, par gavage Prélèvement sanguin à 4 h, 8 h ou 24 h	Chez les mâles : augmentation de l'hématocrite et du VGM à 4 h Chez les femelles : augmentation du VGM, mais diminution de l'hématocrite à 4 h Chez les deux sexes : sphérocytose et hémolyse ; diminutions de l'hématocrite, du taux d'hémoglobine et du compte des hématies après 4 h, plus marqués chez les M que chez les F ; agrégation des hématies (plus fréquente chez les F que chez les M) <i>In vitro</i> : hématies des F pas plus sensibles que hématies des M à l'effet hémolyse du BAA	Effet hémolyse plus marqué (plus précoce et plus intense) chez les femelles que chez les mâles Cette plus grande sensibilité des femelles ne traduit pas une fragilité plus importante de leurs hématies
Udden, 2000	Rats F344 M, 5 animaux par groupe traité ; 10 témoins Hématies de rat et hématies humaines, <i>in vitro</i>	0, 125 ou 250 mg/kg, par gavage Prélèvements sanguins à 0,5 h, 2 h et 4 h Incubation dans BAA (1 ou 2 mM)	Stomatocytose, sphérocytose et augmentation de l'hématocrite dose-dépendantes Stomatocytose, sphérocytose et hémolyse avec les hématies de rat Aucun effet sur hématies humaines	Confirmation des effets hématologiques précédant l'hémolyse, de la responsabilité du BAA et de la faible sensibilité des hématies humaines aux effets toxiques de ce métabolite

Tableau 2.1 (suite)

Références	Modèle expérimental	Protocole administration EGBE	Résultats	Commentaires
Ghanayem et coll., 2001	Rats F344/N F et M ; 5 à 8 animaux par groupe 10 à 12 témoins	0 ou 250 mg/kg/j, par gavage, pendant 1 à 3 j Prélèvement sanguin à 4 h, 8 h ou 24 h Sacrifices 24 ou 48 h après la dernière dose	Anémie macrocytaire, hypochrome et régénérative s'aggravant quand la durée du traitement augmente Stomatocytose, sphérocytose, macrocytose, formation de rouleaux d'hématies, d'intensités également dépendantes de la dose Effets plus précoces et plus marqués chez les F Hémolyse compliquée d'une coagulation intravasculaire disséminée avec des thrombi dans les poumons, la sous-muqueuse nasale, les yeux, le foie, le cœur, les os et les dents et avec des infarctus cardiaques, oculaires, dentaires et osseux, de dépôts d'hémoglobine dans les tubules rénaux et de foyers d'hématopoïèse spléniques	
Starek et coll., 2002	Rats CRL Sexe non précisé 5 par groupe	0, 1,25, 2,5 ou 5 mmol/kg, par voie sous-cutanée Prélèvements sanguins à 0 h, 3 h, 6 h, 24 h, 48 h, 144 h (+96 h et 600 h à 2,5 mmol/kg)	Hémolyse et macrocytose dose-dépendantes, maximales à 24 h	
Udden, 2002	Hématies de rat, <i>in vitro</i> ; Hématies humaines, <i>in vitro</i>	BAA : 0 ; 0,025 ; 0,050 ; 0,075 ; 0,100 mM BAA : 0 ; 2,5 ; 5,0 ; 7,5 ; 10 mM	Diminution de la déformabilité des hématies, augmentation du VGM, de la concentration intra-érythrocytaire de sodium et de la fragilité osmotique, à partir de 2,5 mM pour les hématies humaines, de 0,025 mM pour celles de rat Pas d'hémolyse, mais augmentation modérée du VGM, après incubation d'hématies humaines avec 10 mM de BAA	Confirmation de la très faible sensibilité des hématies humaines à l'effet hémolysant. Pas d'effet notable à 10 mM Accumulation intra-érythrocytaire de sodium en faveur d'un effet du BAA sur les échanges ioniques transmembranaires

Tableau 2.I (suite)

Références	Modèle expérimental	Protocole administration EGBE	Résultats	Commentaires
Ezov et coll., 2002	Rats F344 4 F et 4 M par groupe	0 ou 250 mg/kg/j, par gavage, pendant 2 à 4 j Sacrifices 2 h après la dernière dose, sauf 1 groupe traité 4 j et un groupe témoin, sacrifiés à J29	Anémie hémolytique dans tous les groupes, d'autant plus marquée que le traitement est plus long Hémolyse plus précoce et plus marquée chez les femelles Hémolyse accompagnée de : stomatocytose, sphérocytose, macrocytose, schizocytose, anisochromie, réticulocytose ; thromboses et infarctus ischémiques diffus (vertèbres, fémurs, cœur, cerveau, foie, poumons, yeux, sous-muqueuse nasale) ; nécrose tubulaire rénale ; foyers d'hématopoïèse spléniques	Lésions histologiques semblables à celles observées dans maladies hémolytiques (drépanocytose, thalassémie...) EGBE chez le rat : modèle animal intéressant pour l'étude de ces maladies
Koshkarvey et coll., 2003	Rats F344 4 F et 4 M par groupe	0 ou 250 mg/kg/j, par gavage, pendant 2 à 4 j Prélèvement sanguin et sacrifice 2 h après la dernière dose, sauf 1 groupe traité 4 j et un groupe témoin, sacrifiés à J29	Pas de modification de l'agrégabilité des hématies, mais augmentation de leurs adhérences aux matrices extra-cellulaires et aux cellules endothéliales	L'adhésion des hématies aux cellules endothéliales est probablement l'un des facteurs à l'origine des thrombi et des infarctus produits par l'intoxication par l'EGBE
Nyska et coll., 2003	Rats F344 4 F par groupe	0 ou 250 mg/kg/j, par gavage, pendant 2 à 4 j Prélèvement sanguin et sacrifice 2 h après la dernière dose Étude de l'expression, <i>in situ</i> , au niveau de l'œil, de la VCAM-1, l'ICAM-1 et la P-sélectine	Expression de la <i>vascular cell adhesion molecule-1</i> (VCAM-1) corrélée à la formation de thrombi, au niveau de l'iris, des corps ciliaires et de la rétine seulement après 3 ou 4 doses Pas d'effet sur l' <i>endothelial intercellular adhesion molecule-1</i> (ICAM-1) et la P-sélectine	La VCAM-1 intervient probablement dans les thromboses induites par l'EGBE en promouvant l'adhésion des hématies à l'endothélium vasculaire

Tableau 2.1 (suite)

Références	Modèle expérimental	Protocole administration EGBE	Résultats	Commentaires
Redlich et coll., 2004	Rats F344 4 F et 4 M par groupe	0 ou 250 mg/kg/j, par gavage, pendant 2 à 4 j Prélèvement sanguin et sacrifice 2 h après la dernière dose, sauf 1 groupe traité 4 j et un groupe témoin, sacrifiés à J29	Thrombi et infarctus de la pulpe des dents ; nécrose des odontoblastes Lésion prédominante dans les incisives Foyers de nécrose des myocytes dans la langue Guérison des lésions dentaires et linguales à l'arrêt de l'exposition	Les lésions décrites sont semblables à celles observées en cas de drépanocytose ou de bêta-thalassémie
Shabat et coll., 2004	Rats F344 4 F et 4 M par groupe	0 ou 250 mg/kg/j, par gavage, pendant 2 à 4 j Prélèvement sanguin et sacrifice 2 h après la dernière dose, sauf 1 groupe traité 4 j et un groupe témoin, sacrifiés à J29	Thromboses et infarctus médullaires au niveau des diaphyses fémorales et des vertèbres coccygiennes Lésions plus marquées chez les F que chez les M, à doses égales	
Udden et Patton, 2005	Hématies de rats F344, <i>in vitro</i>	Incubation avec BAA : 0, 0,5, 1 ou 2 mM et un tampon contenant glucose, NaCl, KCl, CaCl ₂	BAA entraîne augmentation VGM et hémolyse Effet protecteur de l'addition de saccharose au milieu et du remplacement du sodium par du potassium dans le milieu Effet aggravant de la déplétion du milieu en calcium Incubation des hématies dans BAA augmente la pénétration intracellulaire de calcium	L'augmentation du VGM et l'hémolyse pourraient résulter d'une entrée de sodium et d'eau dans les hématies. L'entrée simultanée de calcium aurait au moins transitoirement, un effet protecteur

M : mâle ; F : femelle ; BAA : acide butoxyacétique ; VGM : volume globulaire moyen.

Tableau 2.II : Études épidémiologiques des effets hématotoxiques des éthers de glycol (bilan depuis 1999)

Référence Pays Type d'étude	Population (secteur, effectif)	Exposition prédominante (Période d'exposition) Mesure	Résultats
Shih et coll., 2000 Taiwan Transversale	Fabrication de stratifiés plaqués de cuivre 53 sujets directement exposés (47 H, 6 F)	EGME (mesures depuis 1997) EGME Air* : 3,98 ppm MAA Urines** : 19,95 mg/g créat	Diminution du taux d'hémoglobine (Hb), de l'hématocrite (Ht) et du compte des hématies (GR), chez les hommes, corrélée à la concentration de MAA urinaire (Hb, Ht et GR) et la concentration atmosphérique d'EGME (GR), après ajustement sur indice de masse corporelle et durée d'emploi Fréquence de l'anémie : 26,1 % chez les exposés, <i>versus</i> 3,2 % chez les non-exposés Pas de différence observée chez les femmes
Luo et coll., 2002 Taiwan Transversale	Semi-conducteurs 180 travailleurs de la fabrication (96 H, 84 F) 47 hors-fabrication (18 H, 29 F)	Aucune mesure d'éthers de glycol n'est présentée Exposition définie par secteur de fabrication (photolithographie, implantation, diffusion) (année 2000)	Diminution significative du nombre de globules blancs et augmentation de la prévalence de la leucopénie dans le secteur de la photolithographie et implantation Mesure de la fonction hépatique (SGOT, SGPT, GGT) et mesure de la fonction rénale (créatinine). Aucune différence significative entre les groupes, sauf pour SGPT et GGT chez les femmes du département de photolithographie, à la limite de signification (p = 0,08) (ajustement sur âge, alcool, tabac, IMC, hépatite B)
Shih et coll., 2003 Taiwan Transversale	Fabrication de stratifiés plaqués de cuivre 29 sujets directement exposés	Trois campagnes de mesure successives en février, avril et août 1997 (dans une des entreprises de l'étude précédente) EGME Air* : 9,62 ppm; 2,34 ppm ; 0,34 ppm MAA Urines** : 51 mg/g créat, 20 puis 7 mg/g créat	Résultats de base semblables à ceux de l'étude précédente (Shih et coll., 2000)
	90 indirectement exposés	EGME Air* : 0,08 ppm MAA Urines** : 0,53 mg/g créat	Paramètres hématologiques revenus à la normale en avril (2,5 mois plus tard) après une réduction des expositions, stable dans l'évaluation suivante

Tableau 2.II (suite)

Référence Pays Type d'étude	Population (secteur, effectif)	Exposition prédominante (Période d'exposition) Mesure	Résultats
Loh et coll., 2003 Taiwan Transversale	Atelier d'impression dans une entreprise de sérigraphie	EGEEA : solvant nettoyage (1 000 kg/mois)	Diminution du taux d'hémoglobine et de l'hématocrite chez les femmes directement exposées comparées aux femmes indirectement exposées
	29 sujets directement exposés (17 H, 12 F)	EGEEA Air* : 4,87 ppm (H) ; 9,34 ppm (F)	Pas de différence observée chez les hommes sur ces paramètres
	56 indirectement exposés (29 H, 27 F)	EGEEA Air* : 0,07 ppm	Pas de différence observée chez les deux sexes concernant les comptes des hématies, des leucocytes et des plaquettes Corrélations négatives entre la concentration atmosphérique d'EGEEA d'une part, le taux d'hémoglobine, l'hématocrite et le compte des hématies d'autre part, après ajustement sur l'indice de masse corporelle, le sexe et le niveau d'études
Wang et coll., 2004 Chine Transversale	Fabrication de plaques photosensibles 2 entreprises 32 femmes directement exposées à l'EGEE, utilisé comme diluant de peintures 20 femmes indirectement exposées (appariées sur l'âge, le tabagisme et la consommation d'alcool)	EGEE Air* : 6,44 ppm EAA Urines** : 120,87 mg/g créat EGEE Air* : 0,56 ppm EAA Urines** : 2,71 mg/g créat	Pas de différence des taux d'hémoglobine, des comptes des hématies et des leucocytes entre les deux groupes Pas d'excès de risque de trouble menstruel lié à l'exposition Pas de différence des activités des transaminases et de la GGT Pas de plaintes plus fréquentes dans le groupe exposé

* Concentration atmosphérique (moyenne géométrique) ; ** Concentration urinaire (moyenne géométrique) ; H : homme ; F : femme ; créat : créatinine ; MAA : acide méthoxyacétique.

BIBLIOGRAPHIE

AASMOE L, WINBERG JO, AARBAKKE J. The role of liver alcohol dehydrogenase isoenzymes in the oxidation of glycoethers in male and female rats. *Toxicol Applied Pharmacol* 1998, **150** : 86-90

BOATMAN R, KNAAK J. Ethers of ethylene glycol and derivatives. In : Patty's Toxicology, fifth ed. BINGHAM E, COHRSEN B, POWELL CH (eds). John Wiley & Sons, New York, 2001 : 73-270

DANIEL L, ROBERT A, LESAVRE P, FIGARELLA-BRANGER D. Severe mesangiolytic in a patient exposed to glycol ether solvents. *Nephrol Dial Transplant* 2004, **19** : 2679

DENKHAUS W, VON STELDERN D, BOTZENHARDT U, KONIETZKO H. Lymphocyte subpopulations in solvent-exposed workers. *Int Arch Occup Environ Health* 1986, **57** : 109-115

DILL J, LEE K, BATES D, ANDERSON D, JOHNSON R, et coll. Toxicokinetics of inhaled 2-butoxyethanol and its major metabolite, 2-butoxyacetic acid, in F344 rats and B6C3F1 mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1998, **153** : 227-242

EZOV N, LEVIN-HARRUS T, MITTELMAN M, REDLICH M, SHABAT S, et coll. A chemically induced rat model of hemolysis with disseminated thrombosis. *Cardiovasc Toxicol* 2002, **2** : 181-193

GHANAYEM BI, WARD SM, CHANAS B, NYSKA A. Comparison of the acute hematotoxicity of 2-butoxyethanol in male and female F344 rats. *Hum Exp Toxicol* 2000, **19** : 185-192

GHANAYEM BI, LONG PH, WARD SM, CHANAS B, NYSKA M, NYSKA A. Hemolytic anemia, thrombosis, and infarction in male and female F344 rats following gavage exposure to 2-butoxyethanol. *Exp Toxicol Pathol* 2001, **53** : 97-105

GUALIDERI JF, DEBOER L, HARRIS C, CORLEY R. Repeated ingestion of 2-butoxyethanol : case report and literature review. *J Toxicol Clin Toxicol* 2003, **41** : 57-62

HAUFROID V, THIRION F, MERTENS P, BUCHET JP, LISON D. Biological monitoring of workers exposed to low levels of 2-butoxyethanol. *Int Arch Occup Environ Health* 1997, **70** : 232-236

HOECHST. Triäthylenglykoldimethylether, rein. Subakute orale Toxizität (28 Applikationen in 29 Tagen) an männlichen und weiblichen Wistar-Ratten. Versuchsnummer 91.0579, 1992

INSERM. Ethers de Glycol. Quels risques pour la santé ? Collection Expertise collective, Éditions Inserm, Paris, 1999 : 348p

JOHNSON KA, BAKER PC, KAN HL, MAURISSEN JP, SPENCER PJ, MARTY MS. Diethylene glycol monobutyl ether (DGBE): two- and thirteen-week oral toxicity studies in Fischer 344 rats. *Food Chem toxicol* 2005, **43** : 467-481

JU SA, PYO CO, KIM SK, LEE GI, CHOE SY, KIM BS. 2-Methoxyethanol-induced suppression of *in vitro* immune responses of human peripheral blood mononuclear cells. *J Toxicol Publ Health* 1998, **14** : 55-61

- KOSHKARYEV A, BARSHTEIN G, NYSKA A, EZOV N, LEVIN HARRUS T, et coll. 2-Butoxyethanol enhances the adherence of red blood cells. *Arch Toxicol* 2003, **77** : 465-469
- LOH CH, SHIH TS, LIOU SH, LIN YC, HSIEH AT, CHEN CY, LIAO GD. Haematological effects among silk screening workers exposed to 2-ethoxy ethyl acetate. *Occup Environ Med* 2003, **60** : E7
- LONG PH, MARONPOT RR, GHANAYEM BI, ROYCROFT JH, NYSKA A. Dental pulp infarction in female rats following inhalation exposure to 2-butoxyethanol. *Toxicol Pathol* 2000, **28** : 246-252
- LUO JC, HSIEH LL, CHANG MJ, HSU KH. Decreased white blood cell counts in semiconductor manufacturing workers in Taiwan. *Occup Environ Med* 2002, **59** : 44-48
- MCKINNEY PE, PALMER RB, BLACKWELL W, BENSON BE. Butoxyethanol ingestion with prolonged hyperchloremic metabolic acidosis treated with ethanol therapy. *J Toxicol Clin Toxicol* 2000, **38** : 787-793
- NYSKA A, MARONPOT RR, LONG PH, ROYCROFT JH, HAILEY JR, et coll. Disseminated thrombosis and bone infarction in female rats following inhalation exposure to 2-butoxyethanol. *Toxicol Pathol* 1999a, **27** : 287-294
- NYSKA A, MARONPOT RR, GHANAYEM BI. Ocular thrombosis and retinal degeneration induced in female F344 rats by 2-butoxyethanol. *Hum Exp Toxicol* 1999b, **18** : 577-582
- NYSKA A, MOOMAW CR, EZOV N, SHABAT S, LEVIN HARRUS T, et coll. Ocular expression of vascular cell adhesion molecule (VCAM-1) in 2-butoxyethanol-induced hemolysis and thrombosis in female rats. *Exp Toxicol Pathol* 2003, **55** : 231-236
- ORTUNO J, ESTEBAN MA, MESEGUER J. Effects of four anaesthetics on the innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish Shellfish Immunol* 2002a, **12** : 49-59
- ORTUNO J, ESTEBAN MA, MESEGUER J. Effects of phenoxyethanol on the innate immune system of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) exposed to crowding stress. *Vet Immunol Immunopathol* 2002b, **89** : 29-36
- ORTUNO J, ESTEBAN MA, MESEGUER J. Lack of effect of combining different stressors on innate immune responses of seabream (*Sparus aurata* L.). *Vet Immunol Immunopathol* 2002c, **84** : 17-27
- OSTERHOUDT KC. Fomepizole therapy for pediatric butoxyethanol intoxication. *J Toxicol Clin Toxicol* 2002, **40** : 929-930
- REDLICH M, MALY A, AFRAMIAN D, SHABAT S, EZOV N, et coll. Histopathologic changes in dental and oral soft tissues in 2-butoxyethanol-induced hemolysis and thrombosis in rats. *J Oral Pathol Med* 2004, **33** : 424-429
- SHABAT S, NYSKA A, LONG PH, GOELMAN G, ABRAMOVITCH R, et coll. Osteonecrosis in a chemically induced rat model of human hemolytic disorders associated with thrombosis--a new model for avascular necrosis of bone. *Calcif Tissue Int* 2004, **74** : 220-228 (Epub 2003, Sep 25)

SHIH TS, HSIEH AT, LIAO GD, CHEN YH, LIOU SH. Haematological and spermatotoxic effects of ethylene glycol monomethyl ether in copper clad laminate factories. *Occup Environ Med* 2000, **57** : 348-352

SHIH TS, HSIEH AT, CHEN YH, LIAO GD, CHEN CY, CHOU JS, LIOU SH. Follow up study of haematological effects in workers exposed to 2-methoxyethanol. *Occup Environ Med* 2003, **60** : 130-135

SINGH P, ZHAO S, BLAYLOCK BL. Topical exposure to 2-butoxyethanol alters immune responses in female BALB/c mice. *Int J Toxicol* 2001, **20** : 383-390

SINGH P, MORRIS B, ZHAO S, BLAYLOCK BL. Suppression of the contact hypersensitivity response following topical exposure to 2-butoxyethanol in female BALB/c mice. *Int J Toxicol* 2002, **21** :107-114

STAREK A, JAROSZ J, SZYMCZAK W. Comparison of the hemolytic activity of isopropoxyethanol and phenoxyethanol. *Int J Occup Med Environ Health* 2004, **17** : 339-346

TAKAGI A, YAMADA T, HAYASHI K, NAKADE Y, KOJIMA T, TAKAMATSU J, et coll. Involvement of caspase-3 mediated apoptosis in hematopoietic cytotoxicity of metabolites of ethylene glycol monomethyl ether. *Ind Health* 2002, **40** : 371-374

UDDEN MM. Rat erythrocyte morphological changes after gavage dosing with 2-butoxyethanol: a comparison with the in vitro effects of butoxyacetic acid on rat and human erythrocytes. *J Appl Toxicol* 2000, **20** : 381-387

UDDEN MM. *In vitro* sub-hemolytic effects of butoxyacetic acid on human and rat erythrocytes. *Toxicological Sciences* 2002, **69** : 258-264

UDDEN M. Effects of diethylene glycol butyl ether and butoxyethoxyacetic acid on rat and human erythrocytes. *Toxicol letters* 2005, **156** : 95-101

UDDEN M, PATTON C. Butoxyacetic acid-induced hemolysis of rat red blood cells: effect of external osmolarity and cations. *Toxicol letters* 2005, **156** : 81-93

VALENTINE R, O'NEILL AJ, LEE KP, KENNEDY GL JR. Subchronic inhalation toxicity of diglyme. *Food Chem toxicol* 1999, **37** : 75-86

WANG RS, SUDA M, GAO X, WANG B, NAKAJIMA T, HONMA T. Health effects of exposure to ethylene glycol monoethyl ether in female workers. *Ind Health* 2004, **42** : 447-451

3

Mutagenicité, génotoxicité et cancérogénicité expérimentales

En 1999, lors de la première expertise collective de l'Inserm sur les éthers de glycol, les dérivés de l'éthylène glycol apparaissaient quasiment comme les seuls éthers de glycol dont la génotoxicité avait été étudiée. Peu d'informations étaient disponibles sur les dérivés autres que le méthyl, l'éthyl et le butyl glycol et leurs métabolites. Les données manquaient également pour juger de la toxicité des éthers du propylène glycol présentés comme produits de remplacement des solvants maintenant réglementés ; en particulier, les études de cancérogénicité faisaient défaut. S'agissant de substances anciennes notifiées avant 1981, aucun essai n'était requis pour la mise sur le marché de ces substances.

L'évaluation rétrospective des substances anciennes, notamment celles produites à fort tonnage, a été engagée récemment par le Bureau européen des substances chimiques (*European chemicals bureau*) et l'OCDE, avec la participation de l'ensemble des pays européens. Des informations ont été apportées par les firmes productrices de ces substances en vue de leur classification ou de l'évaluation des risques pour l'homme et l'environnement.

Les données de génotoxicité produites lors de ces évaluations sont synthétisées en première partie du document. La génotoxicité de l'EGME, l'EGEE, l'EGBE et de leurs métabolites sera rappelée succinctement et ne sera réexaminée qu'au travers des études récentes complétant les connaissances antérieures.

L'analyse portera en deuxième partie sur les résultats des études de cancérogénèse chez l'animal. Les études relatives à l'EGBE et au PGtBE ont été réalisées par le *National Toxicology Programme* (NTP), et celles relatives au 2PG1ME ont été obtenues par la firme *Dow Chemical*.

Génotoxicité des éthers de l'éthylène et du propylène glycol

En 1999, des données de génotoxicité concernaient les éthers de l'éthylène glycol (EGME, EGEE, EGBE) et leurs métabolites. Ces éthers de glycol ne sont pas intrinsèquement mutagènes sur les systèmes cellulaires, bactéries ou

cellules de mammifères, utilisés classiquement dans les essais standardisés. Ils induisent cependant des effets d'aneuploïdie, la formation de micronoyaux *in vitro* et les échanges entre chromatides sœurs, et interfèrent avec les systèmes d'agrégation de la tubuline. Des effets d'inhibition des communications entre cellules ont été notés, à concentration élevée toutefois. *In vivo* chez la souris, les essais du micronoyau sont restés négatifs (Inserm, 1999).

La toxicité des éthers de l'éthylène glycol apparaît liée à leurs métabolites, aldéhydes intermédiaires et acides, formés par la voie de l'alcool- et de l'aldéhyde déshydrogénase. Ces métabolites sont responsables d'effets clastogènes (cassures) et d'aberrations chromosomiques sur cellules de mammifères ; ils agissent à des concentrations plus faibles que les molécules parentes. Les dérivés aldéhydiques agissent à des concentrations inférieures à 1 mM, les métabolites acides à des concentrations comprises entre 1 et 10 mM, alors que les concentrations effectives des produits parents se situent au-delà de 10 mM, notamment pour l'EGME et l'EGEE (50-100 mM). L'EGBE s'est révélé plus actif *in vitro* que l'EGME et l'EGEE, pouvant agir à partir de concentrations de 10 mM.

Les dérivés du propylène glycol avaient fait l'objet de peu d'études en 1999. Cependant, du fait d'une métabolisation s'opérant majoritairement par déalkylation sans production des intermédiaires réactifs des dérivés de l'éthylène glycol, il était avancé que les éthers du propylène glycol devaient être dépourvus des effets de génotoxicité imputés à ces métabolites.

Les essais *in vitro* utilisés pour évaluer les éthers de glycol complétant la liste des substances analysées en 1999 sont ceux classiquement mis en œuvre dans les méthodes normalisées pour l'évaluation des substances chimiques :

- essais de mutagénicité utilisant : les mutants bactériens, *Salmonella typhimurium* his⁻ (Maron et Ames, 1983) et accessoirement *E. coli* ; les lignées de cellules de mammifères (cellules ovariennes de hamster chinois CHO, cellules pulmonaires de hamster chinois CHL ou V79, mutées au locus⁴ hprt⁻) ; les cellules de lymphome de souris L5178Y⁵ tk^{+/-} utilisées dans l'essai MLA (*mouse lymphoma assay*) ;
- essais de cytogénétique et mesure des aberrations chromosomiques à l'aide de cellules de mammifères CHO ou de lymphocytes humains ;
- essai UDS⁶ mesurant la synthèse non programmée d'ADN associée à la réparation des lésions structurales des molécules d'ADN ;
- essai visualisant les échanges entre chromatides sœurs (SCE), lesquels témoignent de l'exposition à des substances génotoxiques ;

4. Hypoxanthine phosphoribosyl transférase : la réversion du caractère muté permet la conversion de la purine 6-thioguanine (6-TG) en son nucléoside-5-monophosphate létal pour la cellule, alors que la déficience enzymatique permettait la survie des cellules cultivées en présence de 6-TG.

5. L'inactivation ou la perte complète (tk⁻) de l'activité thymidine kinase induit la résistance des cellules mutées à la trifluorothymidine qui ne pourra pas être toxifiée par phosphorylation.

6. « *Unscheduled DNA synthesis* » : synthèse d'ADN non programmée, car s'effectuant en dehors de la phase S du cycle cellulaire.

- essais des micronoyaux détectant des effets clastogènes ou des altérations du fuseau mitotique lors de la division cellulaire...

Les essais de génotoxicité à court terme *in vivo* mesurent soit la formation de micronoyaux dans la moelle osseuse hématopoïétique, soit des aberrations chromosomiques.

Beaucoup plus rares sont les essais de transformation cellulaire détectant les modifications morphologiques accompagnant la transformation néoplasique des cellules embryonnaires, normales et diploïdes de hamster syrien (SHE). En effet, ces essais ne sont pas requis réglementairement.

L'analyse des données de mutagénicité ou de génotoxicité nouvellement portées à notre connaissance montre que la plupart des essais de mutagénicité et de génotoxicité sont restés négatifs, à quelques exceptions près (tableau 3.I).

Ce qui confirme :

- pour les dérivés de l'éthylène glycol, des caractéristiques proches de l'EGME, l'EGEE et l'EGBE ;
- un profil de réponse des éthers du propylène glycol, analogue à celui des éthers de l'éthylène glycol pour les essais classiques de génotoxicité effectués.

En fait, peu d'essais ont été réalisés pour juger des effets d'aneuploïdie, d'inhibition des communications intercellulaires et d'échanges de chromatides sœurs qui avaient pu donner des réponses positives avec les dérivés du méthyl, de l'éthyl glycol et de certains de leurs métabolites.

Les réponses positives enregistrées avec les éthers de l'éthylène glycol concernent les dérivés suivants :

- DEGDME : une réduction de l'implantation des embryons a été observée au niveau utérin dans l'essai *in vivo* du dominant léthal ; cet effet serait lié à la diminution de la fertilité provoquée par la substance, et non à des dommages génétiques au niveau des gamètes ;
- EGBE : confirmation des résultats négatifs obtenus par Elias et coll. (1996) avec les essais d'aberrations chromosomiques *in vitro*, l'essai du micronoyau *in vivo* chez le rat et la souris (NTP, 2000), et l'essai de transformation cellulaire sur les cellules SHE (Park et coll., 2002a) ;
- DEGBE : caractère mutagène à doses fortes (~ 10 µl/ml) dans le test MLA (*mouse lymphoma assay*) et le test CHO (5 mg/ml) (Inserm, 1999) ;
- DEGHE : caractère mutagène sur cellules CHO/HPRT⁻ et clastogène *in vivo* chez la souris.

Les éthers du propylène glycol ayant donné des réponses positives sont les suivants :

- 2PG1ME : induction des échanges entre chromatides sœurs (30 mM) et inhibition de la coopération métabolique traduisant l'inhibition des communications intercellulaires (résultats analogues aux éthers de l'éthylène glycol et obtenus avec des concentrations molaires du même ordre) ;

- 2PG1tBE : caractère mutagène exclusivement sur la souche TA97a de *S. typhimurium* his⁻, une analogie avec l'EGBE (Hoflack et coll., 1995) rapportée dans le rapport NTP (2004) ; réponse positive de l'essai du micronoyau chez les souris femelles exposées par inhalation à 1 200 ppm pendant 3 mois et non chez les souris mâles (NTP, 2004) ;
- DPGnBE : inhibition de la coopération métabolique à 11 mM (Elias et coll., 1996) ;
- 2PG1PhE : positivité des deux essais du micronoyau chez la souris, par inhalation et par gavage. Dans ce deuxième essai, les auteurs rendent l'hypothermie responsable de la formation de micronoyaux chez les souris traitées à la dose de 2 000 mg/kg de poids corporel (OCDE, 2004a).

Des études complémentaires d'ordre mécanistique ont été conduites avec l'EGME afin d'étudier :

- la relation mutagenèse-tératogénèse de l'EGME sur le modèle de la drosophile. Eisses (1999) a mis en évidence les effets mutagènes et tératogènes de l'EGME à 60 mM, les caractères mutagène du MALD et tératogène du MAA ;
- les mécanismes de l'action tératogène du MAA : Ruyani et coll. (2003) ont identifié la répression de la protéine de liaison de la laminine (p40) chez le fœtus de souris ;
- les effets apoptotiques de l'EGME et de ses métabolites : *in vitro*, des effets apoptotiques de l'EGME, du MALD et du MAA sur les cellules sanguines humaines à 5 mM (Ju et coll., 1998), ainsi que des effets de l'EGME et du MALD sur les cellules de moelle osseuse d'origine humaine et sur les cellules HL60, dans la gamme 2-6 mM (Tagaki et coll., 2002) ; *in vivo*, sur des embryons de souris (Ambroso et coll., 1998). Ces résultats confirmaient les effets apoptotiques du MAA sur les cellules germinales des souris mâles précédemment démontrés par Krishnamurthy et coll. (1998) ; les mécanismes d'action apoptotique du MAA, notamment l'induction de l'expression de *bax* et *bak* pro-apoptotiques (Yan et coll., 2000) ;
- les effets cytogénétiques de l'EGME chez des sujets ayant été exposés *in utero* (cassures de l'ADN, polyploïdie...) alors qu'aucune anomalie n'était enregistrée chez les sujets non exposés pendant la gestation (El Zein et coll., 2002).

Les études mécanistiques sur l'EGBE ont eu pour objet d'étudier la relation entre le stress oxydatif et le potentiel cancérigène de la substance. Un stress oxydant chez les souris mâles et femelles traitées par l'EGBE a été mis en évidence par Kamendulis et coll. (1999) ; la sensibilité des souris mâles B6C3F1 aux effets oxydants a été montrée supérieure à celle des rats mâles F344 *in vivo* (Siesky et coll., 2002) et l'a été aussi *in vitro* sur hépatocytes (Park et coll., 2002b). *In vitro*, Park et coll. (2002b) ont montré que le sulfate ferreux induisait la transformation morphologique des cellules SHE, contrairement à l'EGBE et son métabolite acide (BAA). L'implication d'un stress oxydant dans les effets transformants est supportée par les effets protecteurs des antioxydants, comme la vitamine E et un dérivé de l'acide gallique, lesquels inhibent la transformation cellulaire et les dommages à l'ADN.

Ces résultats seront utilisés pour étayer l'hypothèse selon laquelle le fer libéré suite aux effets hémolysants du BAA est à l'origine d'un stress oxydatif pouvant expliquer les effets cancérogènes enregistrés au niveau hépatique lors des expérimentations à long terme chez la souris mâle.

Sur un plan technique, Dartsch et coll. (1999) ont montré que l'EGBE pouvait être oxydé en son dérivé aldéhydique (le BALD) lors du stockage ; ce dérivé pourrait être responsable en partie des effets cytotoxiques de l'EGBE lors des essais *in vitro*. Ces résultats permettraient d'alimenter la thèse selon laquelle les effets mutagènes de l'EGBE sur la souche TA97a de *S. typhimurium* en l'absence d'activation métabolique (Hoflack et coll., 1995) seraient liés à des impuretés d'oxydation. Le BALD n'avait cependant pas d'effet mutagène sur la souche TA97a (Hoflack et coll., 1995). La pureté des solutions d'EGBE testées n'avait pas été vérifiée par ces derniers auteurs, l'EGBE utilisé présentant un taux de pureté supérieur à 99 %. La mutagénicité de l'EGBE n'a pas été retrouvée par Gollapudi et coll. (1996) qui avaient procédé en revanche à la vérification. Si des impuretés sont à l'origine du caractère mutagène de l'EGBE – ce qui n'est pas prouvé –, il pourrait être justifié de prendre en compte ce risque génotoxique avec les formulations commerciales de cet éther de glycol dont le degré de pureté est variable et incontrôlé en fonction des conditions de stockage.

Cancérogénicité de l'EGBE et de deux dérivés du propylène glycol (PGtBE et PGME)

Les données de cancérogénicité dans l'expertise collective de 1999 portaient sur deux éthers de glycol, l'EGEE et l'EGBE. Pour l'EGEE, la génotoxicité *in vitro* avait été démontrée mais la conclusion des études de cancérogénicité chez l'animal était que cet éther de glycol ne présentait pas de potentialité cancérogène, contrairement à l'EGBE. Depuis 1999, des données nouvelles issues d'études expérimentales concernent les effets cancérogènes de l'EGBE et de certains dérivés du propylène glycol (tableau 3.II).

EGBE

Les études de cancérogénicité de l'EGBE, réalisées par le *National Toxicology Program* (NTP), ont été publiées en 2000 et ont fait l'objet d'amples discussions au niveau international (Gift, 2005). La France était rapporteur de l'évaluation des risques de cette substance pour l'Union européenne (ECB, 2004a).

Les expérimentations à long terme ont été réalisées par inhalation journalière, 5 jours par semaine pendant 2 ans ; les concentrations atmosphériques d'EGBE étaient de 31, 62, et 125 ppm chez le rat F344/N, et de 62, 125 et 250 ppm (concentrations doublées) chez la souris B6C3F1.

Chez le rat, aucun effet néoplasique n'a été mis en évidence, mais une augmentation de l'incidence des phéochromocytomes a été observée chez les femelles. Ces tumeurs de la médullosurrénale sécrétant des substances hypertensives développées aux dépens des cellules chromaffines sont habituellement bénignes ; cependant, une tumeur maligne a été trouvée dans le groupe des femelles exposées à 125 ppm d'EGBE. L'apparition de phéochromocytomes chez le rat femelle a été jugée équivoque, comme l'exprime la conclusion du NTP (tableau 3.II).

D'autres effets non néoplasiques ont été observés chez le rat et la souris, comme la pigmentation des cellules de Kupffer par les dépôts d'hémosidérine, à mettre au compte des effets hémolytiques du BAA, métabolite acide de l'EGBE.

Chez la souris, des effets néoplasiques ont été observés : carcinomes hépatocellulaires et hémangiosarcomes⁷ chez la souris mâle, papillomes et carcinomes de l'estomac antérieur chez la souris femelle. Ces résultats expliquent la conclusion « *some evidence* » du NTP.

Hémangiosarcomes

Les hémangiosarcomes ne peuvent être imputés à l'infection par *Helicobacter hepaticus*, qui n'a pas été trouvée chez les animaux exposés.

L'hypothèse mécanistique expliquant les effets cancérogènes de l'EGBE au niveau hépatique chez la souris repose sur l'activation des cellules de Kupffer et les dommages oxydatifs consécutifs à l'hémolyse.

La production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) proviendrait de l'activation des cellules de Kupffer et serait catalysée par le fer libéré lors de l'hémolyse (Boatman et coll., 2004). Les ROS, qui fonctionneraient comme des signaux de transduction, et les cytokines produites par les cellules de Kupffer seraient à l'origine de la prolifération des deux cibles cellulaires de l'EGBE, les cellules endothéliales hépatiques et les hépatocytes (Klaunig et Kamendulis, 2005).

De sorte que si l'on accepte l'hypothèse selon laquelle l'hémolyse est responsable des hémangiosarcomes observés chez la souris, l'homme ne devrait pas être une espèce sensible. La sensibilité des hématies humaines aux effets hémolytiques de l'EGBE est nettement moindre que celle des rongeurs (de deux ordres de magnitude). Cette argumentation présente cependant quelques faiblesses.

L'hypothèse mécanistique des effets cancérogènes par un stress oxydatif n'explique pas les spécificités de réponse liées à l'espèce (souris) et au sexe (mâle). En effet, comment expliquer l'absence de sarcomes chez le rat malgré les dépôts d'hémosidérine observés au niveau hépatique. Green et coll.

7. Les hémangiosarcomes sont des tumeurs vasculaires, c'est-à-dire des tumeurs des cellules endothéliales des vaisseaux.

(2002) ont fait l'hypothèse que les différences rat/souris s'expliquent par les concentrations d'exposition des rats à l'EGBE plus faibles que la souris (concentration maximale de 125 ppm chez le rat et 250 ppm chez la souris). Cependant, des effets oxydatifs sont observés aussi chez le rat. Comment expliquer également l'absence d'effets chez la souris femelle, alors que les dépôts d'hémosidérine sont observés aussi dans les cellules de Kupffer ? Sur ce point, l'hypothèse de capacités antioxydantes de la femelle supérieures à celles du mâle a été avancée sur la base des travaux de Kamendulis et coll. (1999) et Siesky et coll. (2002) évoqués précédemment.

Cependant, les dépôts d'hémosidérine n'ont pas été trouvés dans les cellules endothéliales dont dérivent les hémangiosarcomes chez la souris, mais dans les cellules de Kupffer. Par ailleurs, la pigmentation des cellules de Kupffer était peu sévère et n'a pas été observée dans l'un des animaux atteints d'hémangiosarcome au niveau hépatique.

L'analyse rétrospective des résultats de l'ensemble des études de cancérogénicité d'agents chimiques du NTP et du NCI (*National Cancer Institute*) montre une coïncidence très faible entre les dépôts d'hémosidérine et l'apparition d'hémangiosarcomes. Il y a en effet peu de cancérogènes non génotoxiques pour lesquels il a été trouvé une association entre hémosidérose et hémangiosarcomes. Les résultats sont discutés dans le rapport européen de l'évaluation des risques sur l'EGBE (ECB, 2004a). Six substances induisent le dépôt d'hémosidérine (mais pas nécessairement dans le foie) ou la pigmentation des cellules de Kupffer lors d'expérimentations sur 2 ans⁸, ainsi que des hémangiosarcomes chez la souris mâle, et non chez la femelle. Les dépôts persistants d'hémosidérine sont associés à une hémolyse pour seulement trois de ces substances, dont l'EGBE (Fastier et coll., 2005). Ceci signifie que les hémangiosarcomes associés au dépôt d'hémosidérine peuvent avoir d'autres causes que l'hémolyse.

Après administration d'EGBE, il a été montré par le test des comètes que la production d'espèces réactives de l'oxygène susceptibles d'endommager l'ADN pouvait avoir lieu dans d'autres tissus. Ce mécanisme de toxicité n'est donc pas spécifique aux cellules de Kupffer (Klaunig et Kamendulis, 2005) mais constitue un facteur de cancérogénèse pouvant affecter d'autres cibles tissulaires que le foie.

Carcinomes de l'estomac

L'hypothèse plausible suggérée pour le développement des carcinomes de l'estomac antérieur des souris femelles dans le groupe exposé à 250 ppm d'EGBE invoque l'adsorption de l'EGBE sur la fourrure des rongeurs et l'effet

8. EGBE, p-chloroaniline, o-nitroanisole, pentachloroanisole, C.I. pigment rouge, et chlorhydrate de 3,2,4-diaminophénol.

« grooming » des femelles qui, se léchant, ingèrent l'EGBE (Green et coll., 2002).

Il faut ajouter cependant que l'administration de la substance par voie intrapéritonéale ou sous-cutanée (Poët et coll., 2003) aboutit aussi à des lésions de l'estomac antérieur.

De sorte que l'exposition de la muqueuse de l'estomac antérieur à l'EGBE résulterait de plusieurs processus : ingestion de la fraction déposée sur le pelage, excrétion salivaire, remontée jusqu'au carrefour digestif par l'ascenseur mucociliaire, puis déglutition de l'EGBE déposé dans l'arbre respiratoire. Le taux élevé d'alcool déshydrogénase et d'aldéhyde déshydrogénase dans l'estomac, plus riche dans la partie antérieure de l'estomac que dans la partie glandulaire, expliquerait la formation des métabolites réactifs responsables des effets de cytotoxicité. Les effets néoplasiques (papillomes et carcinomes) seraient associés à des dommages persistants résultant d'un cycle continu de lésions suivies de réparation et régénération aboutissant à l'hyperplasie permanente.

La plus grande sensibilité des souris aux effets cancérigènes gastriques de l'EGBE pourrait être liée à une plus grande activité de l'alcool déshydrogénase gastrique chez cette espèce par rapport au rat. L'activité de l'aldéhyde déshydrogénase, équivalente chez ces deux espèces, impliquerait qu'à dose égale, la production de BAA et surtout de BALD soit plus élevée chez la souris que chez le rat. Cependant, les concentrations de BAA et de BALD n'ont pas été comparées *in vivo* chez la souris et chez le rat.

Chez la souris, la plus grande sensibilité des femelles n'a probablement pas d'explication d'origine métabolique. En effet, chez la souris femelle, les concentrations sanguines en BAA ne sont pas supérieures à celles relevées chez la souris mâle (NTP, 2000). Les travaux d'Aasmoe et Aarbakke (1999) ont d'ailleurs montré que l'activité de l'alcool déshydrogénase gastrique du rat femelle est inférieure à celle du mâle et que les éthers de glycol sont de piètres substrats de l'enzyme. Green et coll. (2002) confirment que la transformation de l'alcool en aldéhyde serait l'étape limitante de la biotransformation de l'EGBE au niveau gastrique et que la répartition des enzymes serait plus dense dans l'estomac antérieur que dans la partie glandulaire chez la souris femelle. Mais aucun commentaire n'est donné concernant des différences entre sexe pouvant expliquer les lésions cancérigènes chez la souris femelle et non chez la souris mâle. Deisinger et Boatman (2004) ont trouvé des concentrations en BALD dans l'estomac antérieur de souris légèrement plus élevées chez la femelle que chez le mâle ; il est dommage que la comparaison entre la partie antérieure et la partie glandulaire de l'estomac chez le mâle n'ait pas été entreprise par Deisinger et Boatman (2004).

Les effets au niveau gastrique n'ont pas été considérés comme appropriés pour l'évaluation des risques pour l'homme (Gift, 2005).

44 En conclusion des données sur l'EGBE, les incertitudes quant à la validité des hypothèses mécanistiques posées, lesquelles restent à vérifier, justifient

la conclusion de l'US-EPA (*US-Environmental Protection Agency*) selon laquelle « la cancérogénicité de l'EGBE pour l'homme ne peut être déterminée actuellement » (Gift, 2005). Pour le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC), l'EGBE appartient au groupe 3 (voir annexes 5 et 6) des agents inclassables : ceux dont la cancérogénicité pour l'espèce humaine ne peut être évaluée, du fait de preuves limitées chez l'animal et de l'absence de données chez l'homme. Quant à l'Union européenne, elle a considéré qu'il n'y avait pas de preuves à ce jour de la cancérogénicité pour l'homme de cette substance (non classée).

PGtBE

Les études de cancérogénicité pour le PGtBE (degré de pureté supérieur à 99 %), réalisées par le NTP, ont été publiées en 2004 et les résultats synthétisés par Doi et coll. (2004).

Les expérimentations à long terme ont été réalisées par inhalation journalière, 5 jours par semaine et pendant 2 ans ; les concentrations atmosphériques de PGtBE étaient de 75, 300 et 1 200 ppm chez le rat F344/N et la souris B6C3F1.

Effets chez le rat

Chez le rat, les effets non néoplasiques enregistrés concernent les effets rénaux caractérisés par l'hyperplasie tubulaire corticale et la néphropathie chronique. Ces effets ont été relevés chez le mâle pour lequel l'incidence croît avec les concentrations d'exposition au PGtBE, et chez la femelle pour laquelle les effets se manifestent à 1 200 ppm. La néphropathie observée chez les femelles à 1 200 ppm indique un mécanisme de toxicité rénale indépendant de l'accumulation d' α 2micro-globuline⁹. Il apparaît donc que le PGtBE, même s'il possède une structure chimique pouvant entraîner une

9. L' α 2micro-globuline est synthétisée majoritairement par le foie, principalement sous le contrôle des androgènes, sécrétée dans le sang puis filtrée au niveau du glomérule rénal. 60 % de la protéine est réabsorbée au niveau des cellules tubulaires par endocytose, puis lentement hydrolysée par phagocytose. Certaines substances chimiques en se liant à l' α 2micro-globuline diminuent le taux de dégradation de la protéine et favorisent son accumulation. L'accumulation conduit à un dysfonctionnement lysosomal, initiant un cycle de cytotoxicité, mort cellulaire, et une augmentation compensatrice de la prolifération cellulaire, dont la chronicité conduit à la promotion de lésions néoplasiques (Swenberg et coll., 1989 ; Borghoff et coll., 1990). Il a été suggéré également que l' α 2micro-globuline serait un vecteur de substance toxique ou protoxique dont l'augmentation des concentrations au niveau du tubule proximal expliquerait la néphrotoxicité (Melnick, 1992). Les substances responsables d'une néphropathie dépendante de l' α 2micro-globuline ont des structures diverses, mais contiennent un atome d'oxygène fonctionnel et un carbone tertiaire. Les composés qui induisent des tumeurs rénales via l'accumulation d' α 2micro-globuline sont essentiellement des cancérogènes non génotoxiques.

néphropathie associée à l' α 2micro-globuline, induit des lésions rénales indépendamment de ce mécanisme ; ainsi, le PGtBE se différencie du PGME.

Des adénomes et des carcinomes tubulaires rénaux ont été identifiés chez les animaux mâles exposés avec une incidence supérieure aux témoins historiques, mais non significativement différente des contrôles expérimentaux.

Au niveau du foie, il a été noté : des foyers d'hépatocytes basophiles, suspectés d'être préneoplasiques ; une augmentation dose-dépendante de l'incidence d'adénomes hépatocellulaires chez les mâles et chez les femelles à 1 200 ppm (incidence supérieure à celle des témoins historiques, mais non statistiquement significative par rapport aux contrôles expérimentaux) ; un cas de cholangiocarcinome, tumeur très rare chez le rat.

Le NTP a conclu à une activité cancérigène incertaine (*equivocal*) du PGtBE chez le rat mâle, sur la base de l'augmentation de l'incidence des néoplasmes rénaux et hépatiques marginaux, et à une activité cancérigène non évidente chez le rat femelle.

Effets chez la souris

Chez la souris, les effets néoplasiques concernent les adénomes et carcinomes hépatocellulaires, et les hépatoblastomes observés chez le mâle et la femelle, avec une incidence supérieure chez la souris mâle. La néphropathie chronique a été observée, comme chez le rat, mais sans néoplasme.

Des lésions non néoplasiques, de type dégénérescence de l'épithélium olfactif et oculaire, ont été enregistrées, mais elles seraient la conséquence d'irritations.

Le NTP a conclu à une activité cancérigène évidente du PGtBE chez les souris mâle et femelle sur la base de l'augmentation de l'incidence des néoplasmes hépatiques.

En conclusion de l'ensemble de ces résultats sur la cancérigénicité du PGtBE, il ressort que le foie est l'organe cible de cette substance chez la souris. Les effets mutagènes observés par le test d'Ames (souche TA97 exclusivement et sans activation métabolique) et l'augmentation du taux des micronoyaux à 1 200 ppm chez la femelle laisseraient suspecter un potentiel génotoxique. Cependant, au vu de l'ensemble des résultats de génotoxicité (tableau 3.I), le PGtBE est considéré comme présentant un profil de substance cancérigène non génotoxique.

Selon le CIRC, le PGtBE est classé dans le groupe 3 (ne peut pas être classé quant à sa cancérigénicité pour l'homme ; voir annexes 5 et 6), sur la base d'une preuve limitée chez l'animal en expérimentation et insuffisante chez l'homme (CIRC, 2004).

PGME

46 Les études de cancérigénicité du PGME (97,5 % de 2PG1ME et 2,5 % de 1PG2ME) réalisées par la société *Dow Chemical* ont été publiées en 1998

(Cieszlak et coll., 1998) et les résultats synthétisés par Spencer et coll. (2002).

Les expérimentations à long terme ont été réalisées par inhalation journalière, 5 jours par semaine et pendant 2 ans ; les concentrations atmosphériques de PGME étaient de 300, 1 000 et 3 000 ppm chez le rat F344/N et la souris B6C3F1.

Chez le rat mâle, une augmentation non significative d'adénomes hépatocellulaires et une élévation de l'incidence de tumeurs rénales épithéliales ont été observées. Les effets rénaux sont jugés non pertinents au regard de l'évaluation des risques pour l'homme, étant considérés associés à la néphropathie consécutive à l'accumulation d' α 2micro-globuline. Les auteurs définissent une concentration NOEL (*no-observed effect level*) de 300 ppm chez le rat sur la base des foyers de transformation cellulaires au niveau hépatique chez le mâle, et une concentration NOAEL (*no-observed-adverse-effect level*) de 1 000 ppm chez la souris sur la base de l'atrophie médullo-surrénalienne chez la femelle (Spencer et coll., 2002).

Les auteurs concluent à l'absence d'effet cancérogène extrapolable à l'homme, suite à l'exposition au PGME.

En conclusion, les essais classiques de mutagénicité et de génotoxicité effectués sur les éthers de l'éthylène glycol – autres que les dérivés de l'EGME, et de l'EGEE et leurs métabolites – et les éthers du propylène glycol, sont généralement négatifs.

Les essais relatifs à l'inhibition des communications intercellulaires, aux échanges de chromatides sœurs ou aux effets aneuploïdogènes qui auraient permis une évaluation comparative plus fine de l'ensemble des substances, n'ont cependant pas été réalisés de manière systématique. Lorsque ces essais ont été entrepris, des résultats positifs ont pu être enregistrés, avec des éthers de l'éthylène glycol comme avec certains de ceux du propylène glycol. Ce qui indiquerait un profil de réponse proche des deux séries.

Les essais de cancérogénicité effectués sur l'EGBE pour la série éthylénique, et sur le PGtBE et le PGME pour la série propylénique, ont révélé leur potentiel cancérogène chez l'animal, souris ou rat, avec des différences inter-espèces, voire inter-sexes, caractéristiques des cancérogènes épigénétiques. Malgré quelques résultats positifs de génotoxicité, ces substances peuvent être considérées comme des cancérogènes non génotoxiques et promoteurs de tumeurs chez l'animal.

L'hypothèse avancée pour expliquer les hémangiosarcomes hépatiques observés lors de l'exposition à l'EGBE est celle de l'hémolyse et d'un stress oxydatif. Cette hypothèse a été retenue par le CIRC qui n'a pas classé la substance cancérogène pour l'homme, du fait de la sensibilité humaine plus

faible aux effets hémolytiques de l'EGBE. Il reste cependant des incertitudes quant au mécanisme de l'hépatocarcinogénèse de l'EGBE chez la souris.

L'autre mécanisme de carcinogénèse invoqué pour l'EGBE, comme pour le PGtBE, est celui de lésions tissulaires résultant de la cytotoxicité de la substance et/ou de ses métabolites. Les lésions initient un cycle de dégénérescence cellulaire suivie de régénération et de prolifération compensatrice. L'hyperplasie permanente qui résulte d'une exposition prolongée peut être à l'origine de la néoplasie.

Les données scientifiques concernant les effets de l'EGBE conduisent à l'adoption de positions nuancées par les trois grandes agences d'évaluation (US-EPA, CIRC et UE). Selon l'US-EPA, la carcinogénicité de l'EGBE pour l'homme ne peut être déterminée actuellement. Pour le CIRC, l'EGBE est dans le groupe 3 (ne peut pas être classé quant à sa carcinogénicité pour l'homme sur la base de preuves limitées chez l'animal et insuffisantes chez l'homme). Quant à l'Union européenne, elle a conclu que les données disponibles ne justifiaient pas d'inscrire l'EGBE dans l'une des trois catégories de carcinogènes de l'UE. Le PGtBE est également classé dans le groupe 3 par le CIRC.

Tableau 3.1 : Études de géotoxicité des éthers de l'éthylène glycol* et du propylène glycol en complément des études rapportées dans l'expertise collective Inserm de 1999. Les résultats positifs sont donnés avec la LOAEC (Low observed adverse effect concentration) ou la gamme des concentrations positives**

Substance N°CAS	Modèle expérimental	Critères ou type d'essai	Gamme de concentrations testées	Résultats/LOAEC ou concentrations positives	Références
DEGME 111-77-3	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i> V79	Mutation réverse CA	jusqu'à 20,5 mg/bte	(-)	ECB, 2000a
			jusqu'à 1,2 mg/ml (10 mM)	(-)	
DEGDME (diglyme) 111-96-6	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	0,005 – 100 µl/bte	(-)	INRS, 1997 WHO CICAD 41, 2002
			0,010 – 10 mg/bte	(-)	
			0,148 – 19 mg/ml	(-)	
EGDME 110-71-4	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	250 – 1 000 ppm inh 7 h/j, 1 à 5 j	(-)	Herbold et coll., 1998 INRS, 2001a
			(soit 1 395 – 5 580 mg/m ³)	(+)	
			250, 1 000 ppm inhalation	(+)	

(+) 1 000 ppm : diminution de fertilité et implantation des embryons

Tableau 3.1 (suite)

Substance N°CAS	Modèle expérimental	Critères ou type d'essai	Gamme de concentrations testées	Résultats/LOAEC ou concentrations positives	Références
TEGME 112-35-6	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	Mutation réverse	4 – 1 000 µg/bte 0,5 – 5 000 µg/bte (préincubation) 4 – 1 000 µg/bte 2 – 5 mg/ml	(-)	INRS, 2001b
	CHO / HPRT- <i>In vivo</i> Souris	Mutation MN	500, 1 670, 5 000 mg/kg par gavage	(-)	INRS, 2001c
TEGDME 112-49-2	Absence de données				INRS, 2003
EGDEE 629-14-1	Absence de données				
DEGEE 111-90-0	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>In vivo</i> Souris <i>swiss CD1</i>	Mutation réverse Gene mutation MN	jusqu'à 1 ml/bte 1 et 10 %, 4 h exposition 2 ml/kg i.p. injectés 2 j de suite	(-) (-) (-)	INRS, 2001d
DEGEEA 112-15-2	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	non précisé	(-)	INRS, 2001e

Tableau 3.I (suite)

Substance N°CAS	Modèle expérimental	Critères ou type d'essai	Gamme de concentrations testées	Résultats/LOAEC ou concentrations positives	Références
DEGDEE 122-36-7	Absence de données				INRS, 2002
TEGEE 112-50-5	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	4 – 1 000 µg/bte 0,5 – 5 mg/bte préincubation 2 – 5 mg/ml	(-) (-)	INRS, 2001f
	CHO/HPRT- <i>In vivo</i> Souris CD-1	Mutation MN	0, 500, 1 670, 5 000 mg/kg par gavage	(-) (-)	
EGNPE 2807-30-9	Absence de données				
EGBE*** 111-76-2	<i>In vitro</i> CHO	Mutations SCE	0,06 – 1 % 0,01 – 0,25 %	(-) (-)	ECB, 2004a INRS, 1999
	Hépatocytes rat Lymphocytes humains	UDS CA SCE	(0,1 – 100), 10 ⁻³ % 500 – 3 000 ppm	(+) (-)	(+) 10 ⁻³ et 0,1.10 ⁻³ % 500 ppm
	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA102	Mutation réverse	Jusqu'à 14 mg/bte	(-)	Villalobos-Pietrini et coll., 1989 Hoflack et coll., 1995

Tableau 3.I (suite)

Substance N°CAS	Modèle expérimental	Critères ou type d'essai	Gamme de concentrations testées	Résultats/LOAEC ou concentrations positives	Références
	<i>S. typhimurium</i> TA97a	Mutation réverse	jusqu'à 14 mg/bte	(+) 4,4 mg/bte	Hoflack et coll., 1995
	<i>S. typhimurium</i> TA97a	Mutation réverse	0,5 – 10 mg/bte	(-)	Gollapudi et coll., 1996
	V79, lymphocytes humains	CA	8 – 80 mM	(-)	Elias et coll., 1996
	V79	Mutation, SCE		(+) 20 mM (mut) 15 mM (SCE)	
		Micronoyaux		(+) 8 mM	
		Aneuploïdie		(+) 10 mM	
		Inhib. coop. métab.		(+) 8,5 mM	
	CHO	CA	jusqu'à 5 mg/ml	(-)	NTP, 2000
		SCE	jusqu'à 3,5 mg/ml	(-)	
	SHE	Transformation cellulaire	jusqu'à 8 mM	(-)	Elias et coll., 1996
	SHE	Transformation cellulaire	jusqu'à 20 mM	(-)	Park et coll., 2002a
	<i>In vivo</i>				
	Souris	Micronoyaux	150 – 1 000 mg/kg/i.p.	(-)	Elias et coll., 1996
	Souris B6C3Fi	Micronoyaux	550 mg/kg i.p. x 3	(-)	NTP, 2000
	Rat F344/N	Micronoyaux	450 mg/kg i.p. x 3	(-)	NTP, 2000
	Absence de données				ECB, 2004d
EGBEA 112-07-2					
DEGBE 112-34-5	<i>In vitro</i>				
	<i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	jusqu'à 20 µl/bte	(-)	Thompson et coll., 1984

Tableau 3.1 (suite)

Substance N°CAS	Modèle expérimental	Critères ou type d'essai	Gamme de concentrations testées	Résultats/LOAEC ou concentrations positives	Références
	L5178Y tk ⁺ /-	Mutation	jusqu'à 7,5 µl/ml	(+) à doses cytotoxiques	ECB, 2000b
	Hépatocytes de rat	UDS	jusqu'à 10 µl/ml	(-)	
	CHO	Essai cytogénétique	4,5 – 8 µl/ml	(-)	
	Drosophile	Mutation létale récessive liée au sexe	14 000 ppm/inj 11 000 ppm/per os	(-)	
	CHO	Mutation	1 – 5 mg/ml	(-) < 3 mg/ml (+/-) > 3 mg/ml avec S9	Gollapudi et coll., 1993
	<i>In vivo</i> Souris CD-1	Micronoyaux	330 – 3 300 mg/kg per os	(-)	INRS, 2001j
DEGBEA 124-17-4	Absence de données				
TEGBE 143-22-6	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	jusqu'à 5 mg/ble	(-)	OCDE SIAM 15, 2002
23783-42-8	CHO/HPRT	Mutation, CA	jusqu'à 5 mg/ble	(-)	INRS, 2001g
1559-34-8	<i>In vivo</i> Souris	MN	jusqu'à 5 mg/kg	(-)	
EGPhE 122-99-6	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	jusqu'à 5 mg/ble	(-)	INRS, 2002a OCDE SIAM 18, 2004b
	<i>In vivo</i> Rats Sprague Dawley	CA	280, 933, 2 800 mg/kg	(-)	
	Souris	MN	300, 600, 1 200 mg/kg	(-) doses non précisées dans SIAM 18	

Tableau 3.I (suite)

Substance N°CAS	Modèle expérimental	Critères ou type d'essai	Gamme de concentrations testées	Résultats/LOAEC ou concentrations positives	Références
DEGHE 112-59-4	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	non précisé	(-)	Ballantyne et Vergnes, 2001
	CHO/HPRT	Mutation SCE	non précisé non précisé	(+) avec S9 (0,7-1,5 mg/ml) (-)	INRS, 2001h
	<i>In vivo</i> Souris	MN CA	non précisé non précisé	(-) (-)	
				(+) 375, 750 mg/kg i.p. à 48 h chez mâles	
PGME*** 107-98-2	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	2 – 6 250 µg/bte 20 – 5 000 µg/bte	(-) (-)	OCDE SIAM 11, 2001a ECB, 2004b BASF AG (1983)
	Hépatocytes de rat V79	UDS Mutation SCE	31 µM – 105 mM 14 – 55 mM > 10 – 100 mM	(-) (-) (+ 30 mM (sans S9)	Mendrala (1983) Elias et coll., 1996 Elias et coll., 1996
	CHO V79 V79	CA CA MN	1,25 – 10 mg/ml > 10 – 100 mM	(-) (-) (-)	Dow Europe SA (1983) Elias et coll., 1996 Elias et coll., 1996
	SHE	Inhib. coop. métab. Transformation cellulaire	14 – 55 mM	(+ 28 mM (sans S9) (-)	Elias et coll., 1996 Elias et coll., 1996
	<i>In vivo</i> Souris	Micronoyaux	2 500 – 6 000 mg/kg i.p.	(-)	Elias et coll., 1996

Tableau 3.I (suite)

Substance N°CAS	Modèle expérimental	Critères ou type d'essai	Gamme de concentrations testées	Résultats/LOAEC ou concentrations positives	Références
2FG1MEA ou PMA 108-65-6	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> CHL CHL	Mutation réverse <i>Mitotic gene conversion</i> CA CA	jusqu'à 5 mg/bte jusqu'à 5 mg/ml 0,3 – 1,3 mg/ml jusqu'à 3,5 (S9-) et 7,5 (S9+) mg/ml	(-) (-) (-) (-)	OCDE SIAM 11, 2001b OCDE SIAM 17, 2003 ECB, 2004c
	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i> Hépatocytes de rat	Mutation réverse UDS	0,3 – 5 mg/bte 31 – 10 ⁵ µM	(-) (-)	OCDE SIAM 17, 2003 OCDE SIAM 11, 2001b
DPGME 34590-94-8	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	313 – 5 000 – 6 250 µg/bte	(-)	OCDE SIAM 12, 2001c et d
13429-07-7	V79	CA	0,37 – 1,48 mg/ml	(-)	
20324-32-7	CHO	Cytogénétique	1,25 – 10 mg/ml	(-)	
13538-28-8 (isomères)	Hépatocytes de rat	UDS	31 – 10 ⁴ µM	(-)	
DPGMEA 88917-22-0	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	Mutation réverse Mutation réverse	non précisé	(-) (-)	OCDE SIAM 17, 2003

Tableau 3.I (suite)

Substance N°CAS	Modèle expérimental	Critères ou type d'essai	Gamme de concentrations testées	Résultats/LOAEC ou concentrations positives	Références
TPGME	<i>In vitro</i>				
25498-49-1	<i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	non précisé	(-)	OCDE SIAM 17, 2003
20324-33-8	non précisé	UDS		(-)	
2PG1EE	<i>In vitro</i>				
1569-02-4	<i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	jusqu'à 5 mg/ble	(-)	INRS, 2001i
	Lymphocytes humains	Cytogénétique	jusqu'à 5 mg/ble	(-)	
2PG1EEA	<i>In vitro</i>				
54839-24-6	<i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	0,05 – 5 mg/ble	(-)	INRS, 2000
	CHO	Cytogénétique	0,23 – 2,3 mg/ml	(-)	
2PG1IBE'''	<i>In vitro</i>				
57018-52-7	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98, TA100	Mutation réverse	0,1 ; 0,33, 1 ; 3,33 ; 5 mg/ble	(-)	NTP, 2004
	<i>S. typhimurium</i> TA 97			(+) sans S9	
	L5178Y tk ⁺	Mutation réverse	0,01 – 5 mg/ml	(-)	Communication INRS
	CHO	CA	1 ; 2,3 ; 5 mg/ml	(-)	NTP, 2004
	CHO	SCE	0,17 ; 0,5 ; 1,67 ; 5 mg/ml	(-)	
	<i>In vivo</i>				
	Souris	MN	75 - 1 200 ppm inhalation/ 3 mois	(-) mâles (+) femelles à 1 200 ppm	

Tableau 3.1 (suite)

Substance N°CAS	Modèle expérimental	Critères ou type d'essai	Gamme de concentrations testées	Résultats/LOAEC ou concentrations positives	Références
2FG1nBE 5131-66-8	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i> Mouse lymphoma L5178Y non précisé CHO	Mutation réverse Mutation réverse UDS Cytogénétique	non précisé non précisé non précisé non précisé	(-) (-) (-) (-)	OCDE SIAM 17, 2003
DPGnBE 29911-28-2	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i> CHO / HPRT CHO	Mutation réverse Mutation Cytogénétique	non précisé non précisé non précisé	(-) (-) (-)	OCDE SIAM 17, 2003
	V79, lymphocytes humains V79	Mutation, SCE, CA Micronoyaux	10 – 20 mM	(-) (-)	Elias et coll., 1996
	SHE	Inhib. coop. métab.		(+) à 11 mM	
	<i>In vivo</i> Souris	Transformation cellulaire		(-)	
DPGtBE 132739-31-2	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i>	Micronoyaux	100 – 400 mg/kg i.p.	(-)	
nouvelle substance	<i>In vivo</i> Souris	Mutation réverse MN	jusqu'à 5 mg/ble 200, 400, 600 (mâle), ou 800 (femelle) mg/kg i.p.	(-) (-)	ARCO Chemical, 1996a ARCO Chemical, 1996b

Tableau 3.II : Cancérogénicité des éthers de glycol (résultats des études publiées depuis 1999)

Substance N°CAS	Protocole expérimental Inhalation 6 h/j, 5 j/sem, 2 ans Concentrations testées (ppm)	Effets enregistrés	Résultats	Concentrations en ppm positives (p < 0,05) Relation doses-effets (DE+)	Références Conclusions
EGBE 111-76-2	Rat F344/N	Effets néoplasiques	néant		NTP, 2000
	0 ; 31,2 ; 62,5 ; 125	Effets non néoplasiques			
		Foie : pigmentation des cellules de Kupffer	+/m	DE+ / 31, 62, 125	mâles : <i>No Evidence</i>
		Médullosurrénales : phéochromocytomes	+/f	125	femelles : <i>Equivocal Evidence</i> NTP, 2000
PGIBE 57018-52-7	Souris B6C3F ₁	Effets néoplasiques			
	0 ; 62,5 ; 125 ; 250	Foie : hémangiosarcomes	+/m	DE+ / 250	mâles : <i>Some Evidence</i>
		Estomac antérieur : papillomes, carcinomes	+/f	250	femelles : <i>Some Evidence</i>
		Effets non néoplasiques			
	Estomac antérieur : ulcères, hyperplasie	+/m, f	250		
	Foie : pigmentation des cellules de Kupffer	+/m	250		
	Foie : pigmentation des cellules de Kupffer	+/f	125, 250		
	Rate : prolifération cellulaire	+/m	125, 250		
	Moelle osseuse : hyperplasie	+/m	250		
	Effets néoplasiques	néant			NTP, 2004
	Effets non néoplasiques				
	Rein : hyperplasie tubulaire, néphropathie	+/m		DE+ / 75, 300, 1 200	mâles : <i>Equivocal Evidence</i>
	Rein : hyperplasie	+/f		1 200	femelles : <i>No Evidence</i>
	Effets néoplasiques				
	Foie : adénomes hépatocellulaires	+/m		DE+ / 75, 300, 1 200	NTP, 2004
	Foie : adénomes hépatocellulaires	+/f		1 200	mâles : <i>Clear Evidence</i>
	Foie : carcinomes hépatocellulaires	+/f		1 200	femelles : <i>Clear Evidence</i>

Tableau 3.II (suite)

Substance N°CAS	Protocole expérimental Inhalation 6 h/j, 5 j/semaine, 2 ans Concentrations testées (ppm)	Effets enregistrés	Résultats	Concentrations en ppm positives (p < 0,05) Relation doses-effets (DE ⁺)	Références Conclusions
PGME 107-98-2	Rat F344/N 0 : 300 ; 1 000 ; 3 000	Foie : hépatoblastomes	+/m, f	1 200	Cieszlak et coll., 1998 et Spencer et coll., 2002 NOAEL* : 300 ppm
		Effets non néoplasiques			
		Foyers hépatiques éosinophiles	+/m, f	1 200	
		Minéralisation cornée, néphropathie	+/f	1 200	
		Effets néoplasiques	+/m	1 000	
		Rein : tumeurs épithéliales (adénocarcinomes)			
		Autres effets			
		Prolongement phase S cycle cellulaire	+/m	300	
		Néphropathie	+/m, f	1 000, 3 000	Cieszlak et coll., 1998 et Spencer et coll., 2002 NOAEL* : 1 000 ppm
		Effets non néoplasiques			
	Souris B6C3F ₁ 0 : 300 ; 1 000 ; 3 000	Atrophie médullosurrénale	+/f	3 000	

* no observed adverse effect level / m : mâle ; f : femelle

BIBLIOGRAPHIE

- AASMOE L, AARBAKKE J. Sex-dependent induction of alcohol dehydrogenase activity in rats. *Biochem Pharmacol* 1999, **57** : 1067-1072
- AMBROSO JL, STEDMAN DB, ELSWICK BA, WELSCH F. Characterization of cell death induced by 2-methoxyethanol in CD-1 mouse embryos on gestation day 8. *Teratology* 1998, **58** : 231-240
- ARCO CHEMICAL. DPTB : mouse micronucleus test. 1996a : 28/960732, 2p
- ARCO CHEMICAL. Dipropylene glycol t-butyl ether : bacterial mutation assay. 1996b : 27/960041, 2p
- BALLANTYNE B, VERGNES JS. *In vitro* and *in vivo* genetic toxicology studies with diethylene glycol monoethyl ether. *J Appl Toxicol* 2001, **21** : 449-460
- BASF AG. Abt Toxicologie, unpublished report 82/322, 20.06. 1983
- BOATMAN R, CORLEY R, GREEN T, KLAUNIG J, UDDEN M. Review of studies concerning the tumorigenicity of 2-butoxyethanol in B6C3F1 mice and its relevance for human risk assessment. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 2004, **7** : 385-398
- BORGHOF SJ, SHORT BG, SWENBERG JA. Biochemical mechanisms and pathobiology of alpha 2u-globulin nephropathy. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1990, **30** : 349-367
- CIESZLAK FS, CRISSMAN J, STOTT W, CORLEY R, DOW CHEMICAL COMPAGNY. Propylene glycol monomethyl ether: a two-year vapor inhalation chronic toxicity/oncogenicity study and evaluation of hepatic and renal cellular proliferation, P450 enzyme induction and protein droplet nephropathy in Fischer 344 rats. Unpublished report, 1998
- CIRC. Centre international de recherche sur le cancer. Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert-Butoxy-2-propanol. (vol. 88, 2-9 juin 2004), 2004 (lien consulté en avril 2005, <http://www-cie.iarc.fr/htdocs/announcements/vol88.htm>)
- DARTSCH PC, HILDENBRAND S, GFROERER W, KIMMEL R, SCHMAHL FW. Cytotoxic effects of 2-butoxyethanol *in vitro* are related to butoxyacetaldehyde, an intermediate oxidation product. *Environ Toxicol Pharmacol* 1999, **7** : 135-142
- DEISINGER PJ, BOATMAN RJ. *In vivo* metabolism and kinetics of ethylene glycol monobutyl ether and its metabolites, 2-butoxyacetaldehyde and 2-butoxyacetic acid, as measured in blood, liver and forestomach of mice. *Xenobiotica* 2004, **34** : 675-685
- DOI AM, ROYCROFT JH, HERBERT RA, HASEMAN JK, HAILEY JR, et coll. Inhalation toxicology and carcinogenesis studies of propylene glycol mono-t-butyl ether in rats and mice. *Toxicology* 2004, **199** : 1-22
- DOW EUROPE SA. Metaphase analysis of Chinese hamster ovary (CHO) cells treated with DOWANOL * PM, unpublished report, 1983.
- ECB. European Chemicals Bureau. European Union Risk Assessment Report. 2-(2-methoxyethoxy) ethanol - DEGME - CAS No : 111-77-3, 2000a
- ECB. European Chemicals Bureau. European Union Risk Assessment Report : 2-(2-butoxyethoxy) ethanol - DEGBE - CAS No : 112-34-5, 2000b

ECB. European Chemicals Bureau. European Union Risk Assessment Report : 2-butoxyethanol - EGBE - CAS No : 111-76-2 (draft), 2004a

ECB. European Chemicals Bureau. European Union Risk Assessment Report : 1-Methoxypropan-2-ol - 2PG1ME - CAS No : 107-98-2 (draft), 2004b

ECB. European Chemicals Bureau. European Union Risk Assessment Report : 1-Methoxy-2-propanol acetate - 2PG1MEA - CAS No : 108-65-6 (draft), 2004c

ECB. European Chemicals Bureau. European Union Risk Assessment Report : 2-butoxyethanol acetate - EGBEA - CAS No : 112-07-2 (draft), 2004d

EISSES KT. Concurrent teratogenic and mutagenic action of 2-methoxyethanol in *Drosophila melanogaster* larvae resulted in similar phenotypes : close resemblance to directed mutations. *Teratog Carcinog Mutagen* 1999, **19** : 183-204

ELIAS Z, DANIERE MC, MARANDE AM, POIROT O, TERZETTI F, SCHNEIDER O. Genotoxic and/or epigenetic effects of some glycol ethers : results of different short-term tests. *Occup Hyg* 1996, **2** : 187-212

EL-ZEIN RA, ABDEL-RAHMAN SZ, MORRIS DL, LEGATOR MS. Exposure to ethylene glycol monomethyl ether : clinical and cytogenetic findings. *Arch Environ Health* 2002, **57** : 371-376

FASTIER A, HERVE-BAZIN B, MCGREGOR D. INRS activities on risk assessment of glycol ethers. *Toxicol letters* 2005, **156** : 59-76

GIFT JS. US EPA's IRIS assessment of 2-butoxyethanol : the relationship of noncancer to cancer effects. *Toxicol letters* 2005, **156** : 168-178

GOLLAPUDI B, LINScombe VA, MCCLINTOCK ML, SINHA AK, STACK CR. Toxicology of diethylene glycol butyl ether : 3. Genotoxicity evaluation in an *in vitro* gene mutation assay and an *in vivo* cytogenetic test. *J Am Coll Toxicol* 1993, **12** : 155-160

GOLLAPUDI BB, BARBER ED, LAWLOR TE, LEWIS SA. Re-examination of the mutagenicity of ethylene glycol monobutyl ether to *Salmonella* tester strain TA97a. *Mutat Res* 1996, **370** : 61-64

GREEN T, TOGHILL A, LEE R, MOORE R, FOSTER J. The development of forestomach tumours in the mouse following exposure to 2-butoxyethanol by inhalation : studies on the mode of action and relevance to humans. *Toxicology* 2002, **180** : 257-273

HERBOLD B, HAAS P, SEEL K, WALBER U. Studies on the effect of the solvents dimethylsulfoxide and ethyleneglycoldimethylether on the mutagenicity of four types of diisocyanates in the *Salmonella*/microsome test. *Mutat Res* 1998, **412** : 167-175

HOFACK JC, LAMBOLEZ L, ELIAS Z, VASSEUR P. Mutagenicity of ethylene glycol ethers and of their metabolites in *Salmonella typhimurium* his⁻. *Mutat Res* 1995, **341** : 281-287

INRS. Classification and labelling of dangerous substances - DEGDME - No CAS : 111-96-6. Allemagne 1997

INRS. Classification and labelling of dangerous substances - EGBE - No CAS : 111-76-2. France 1999

- INRS. Classification and labelling of dangerous substances - 2PG1EEA - No CAS : 54839-24-6. France 2000
- INRS. Classification and labelling of dangerous substances - EGDME - No CAS : 110-71-4. France 2001a
- INRS. Classification and labelling of dangerous substances - TGME - No CAS : 112-35-6. France 2001b
- INRS. Classification and labelling of dangerous substances - TEGDME - No CAS : 112-49-2. France 2001c
- INRS. Classification and labelling of dangerous substances - DEGEE- No CAS : 111-90-0. France 2001d
- INRS. Classification and labelling of dangerous substances - DEGEEA - No CAS : 112-15-2. France 2001e
- INRS. Classification and labelling of dangerous substances - TEGEE - No CAS : 112-50-5. France 2001f
- INRS. Classification and labelling of dangerous substances - TEGBE - No CAS : 143-22-6. France 2001g
- INRS. Classification and labelling of dangerous substances - DEGHE - No CAS : 112-59-4. France 2001h
- INRS. Classification and labelling of dangerous substances - 2PG1EE - No CAS : 1569-02-4. France 2001i
- INRS. Classification and labelling of dangerous substances - DEGBEA- No CAS : 124-17-4. France 2001j
- INRS. Classification and labelling of dangerous substances - EGPhE - No CAS : 122-99-6. France 2002a
- INRS. Classification and labelling of dangerous substances - DEGDEE - No CAS : 112-36-7. France 2002b
- INRS. Classification and labelling of dangerous substances - EGDEE - No CAS : 629-14-1. France 2003
- INSERM. Ethers de glycol. Quels risques pour la santé ? Collection Expertise collective, Éditions Inserm, Paris, 1999 : 348p
- JU SA, PYO CO, KIM SK, LEE GI, CHOE SY, KIM BS. 2-Methoxyethanol-induced suppression of *in vitro* immune responses of human peripheral blood mononuclear cells. *J Toxicol Publ Health* 1998, **14** : 55-61
- KAMENDULIS LM, PARK JJ, KLAUNIG JE. Potential mechanisms of rodent liver toxicity by 2-butoxyethanol : oxidative stress studies. Project No. 98-102. Indiana University Toxicology, Indianapolis, Indiana, USA, 1999
- KLAUNIG JE, KAMENDULIS LM. Mode of action of butoxyethanol-induced mouse liver hemangiosarcomas and hepatocellular carcinomas. *Toxicol letters* 2005, **156** : 107-115

KRISHNAMURTHY H, WEINBAUER GF, ASLAM H, YEUNG CH, NIESCHLAG E. Quantification of apoptotic testicular germ cells in normal and methoxyacetic acid-treated mice as determined by flow cytometry. *J Andro* 1998, **19** : 710-717

MARON DM, AMES BN. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat Res* 1983, **113** : 173-215

MENDRALA AL. Evaluation of DOWANOL* PM in the rat hepatocyte unscheduled DNA synthesis assay, unpublished report of the Dow Chemical Company, 1983

MELNICK R L. An alternative hypothesis on the role of chemically induced protein droplet (alpha 2u-globulin) nephropathy in renal carcinogenesis. *Regul Toxicol Pharmacol* 1992, **16** : 111-125

NTP. Toxicology and Carcinogenesis Studies 2-Butoxyethanol (CAS N°. 111-76-2) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Inhalation Studies). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser* 2000, **484** : 1-290

NTP. Toxicology and carcinogenesis studies propylene glycol mono-t-butyl ether (CAS N° 57018-52-7) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice and a toxicology study of propylene glycol mono-t-butyl ether in male NBR rats (Inhalation Studies). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser* 2004, **515** : 1-306

OCDE. SIDS initial assessment Report. 11th SIAM : 1-Methoxypropan-2-propanol acetate (PGME) CAS No 107-98-2. 2001a : 101p

OCDE. SIDS initial assessment Report. 11th SIAM : 1-Methoxypropan-2-propanol acetate (PGMEA) CAS No 108-65-6. 2001b : 228p

OCDE. SIDS initial assessment Report. 12h SIAM : DiPropylene Glycol Methyl Ether CAS No 34590-94-8. 2001c : 19p

OCDE. SIDS initial assessment Report. 12h SIAM : DiPropylene Glycol Methyl Ether - DPGME - CAS No 34590-94-8. 2001d : 99p

OCDE. SIDS initial assessment Report. 15th SIAM : Triethylene Glycol Methyl Ether CAS No 143-22-6 Tetraethylene Glycol Methyl Ether CAS No 23783-42-8 Tetraethylene Glycol Methyl Ether CAS No 1559-34-8. 2002 : 25p

OCDE. SIDS initial assessment Report. 17th SIAM : Propylene glycol n-butyl ether CAS No 5131-66-8 Dipropylene glycol n-butyl ether CAS No 29911-28-2 Dipropylene glycol methyl ether acetate CAS No 88917-22-0 Tripropylene glycol methyl ether CAS No 25498-49-1 et 20324-33-8. 2003 : 51p

OCDE. SIDS initial assessment Report. 18th SIAM : Propylene Glycol Phenyl Ether CAS No 770-35-4 (alpha isomer), CAS No 4169-04-4 (beta isomer), CAS No 41593-38-8 (mélange). 2004a : 30p

OCDE. SIDS initial assessment Report. 18th SIAM : Ethylene Glycol Phenyl Ether CAS No 122-99-6. 2004b : 20p

PARK J, KAMENDULIS LM, KLAUNIG JE. Mechanisms of 2-butoxyethanol carcinogenicity: studies on Syrian Hamster Embryo (SHE) cell transformation. *Toxicol Sci* 2002a, **68** : 43-50

64 PARK J, KAMENDULIS LM, KLAUNIG JE. Effects of 2-butoxyethanol on hepatic oxidative damage. *Toxicol Letters* 2002b, **126** : 19-29

POET TS, SOELBERG JJ, WEITZ KK, MAST TJ, MILLER RA, et coll. Mode of action and pharmacokinetic studies of 2-butoxyethanol in the mouse with an emphasis on forestomach dosimetry. *Toxicol Sci* 2003, **71** : 176-189

RUYANI A, SUDARWATI S, SUTASURYA LA, SUMARSONO SH, GLOE T. The laminin binding protein p40 is involved in inducing limb abnormality of mouse fetuses as the effects of methoxyacetic acid treatment. *Toxicol Sci* 2003, **75** : 148-153

SIESKY AM, KAMENDULIS LM, KLAUNIG JE. Hepatic effects of 2-butoxyethanol in rodents. *Toxicol Sci* 2002, **70** : 252-260

SPENCER PJ, CRISSMAN JW, STOTT WT, CORLEY RA, CIESZLAK FS, et coll. Propylene glycol monomethyl ether (PGME) : inhalation toxicity and carcinogenicity in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice. *Toxicol Pathol* 2002, **30** : 570-579

SWENBERG JA, SHORT B, BORGHOFF S, STRASSER J, CHARBONNEAU M. The comparative pathobiology of alpha 2u-globulin nephropathy. *Toxicol Appl Pharmacol* 1989, **97** : 35-46

TAKAGI A, YAMADA T, HAYASHI K, NAKADE Y, KOJIMA T, et coll. Involvement of caspase 3 mediated apoptosis in hematopoietic cytotoxicity of metabolites of ethylene glycol monomethyl ether. *Ind Health* 2002, **40** : 371-374

THOMPSON ED, COPPINGER WJ, VALENCIA R, LAVICOLI J. Mutagenicity testing of diethylene glycol monobutyl ether. *Environ Health Perspect* 1984, **57** : 105-112

VILLALOBOS-PIETRINI R, GOMEZ-ARROYO S, ALTAMIRANO-LOZANO M, OROZCO P, RIOS P. Cytogenetic effects of some cellosolves. *Rev Int Contam Ambient* 1989, **5** : 41-48

WHO. World Health Organization, Diethylene Glycol Dimethyl Ether. Concise International Chemical Assessment Document 41, 2002 : 1-22

YAN W, SAMSON M, JEGOU B, TOPPARI J. Bcl-w forms complexes with Bax and Bak, and elevated ratios of Bax/Bcl-w and Bak/Bcl-w correspond to spermatogonial and spermatocyte apoptosis in the testis. *Mol Endocrinol* 2000, **14** : 682-699

4

Effets sur la fonction de reproduction et le développement chez l'animal

La toxicité des éthers de glycol sur la fonction de reproduction peut s'exprimer au niveau des organes reproducteurs (en particulier sur les gonades), du système endocrinien ou des événements qui font suite à la fécondation. Les manifestations d'une telle toxicité peuvent inclure des effets délétères sur la maturation sexuelle, la production, la qualité et le transport des gamètes à l'âge adulte, le comportement sexuel, la gestation et sur toutes les autres fonctions dépendantes de l'intégrité du système reproducteur. Les effets toxiques des éthers de glycol sur la fonction de reproduction se manifestent en particulier sur la fertilité (mâle ou femelle) et sur le développement, ces derniers pouvant se manifester par une toxicité maternelle chez la femelle gravide, une toxicité fœtale ou des malformations.

Effets sur les gonades et la fertilité

Un nombre important de données toxicologiques produites dès le début des années 1980 ont permis de souligner la toxicité de certains éthers de glycol, en particulier ceux dérivés de la série éthylénique et de bas poids moléculaire, sur la gonade mâle. Cette toxicité s'est avérée hautement spécifique pour la lignée cellulaire germinale, entraînant un arrêt de la spermatogenèse et par voie de conséquence une diminution de la fertilité des animaux. Sur la base des données disponibles en 1999, il subsistait quelques incertitudes pour certains éthers de glycol de la série éthylénique et une absence d'informations pour d'autres (Inserm, 1999). Concernant les éthers de glycol de la série propylénique, les études disponibles, bien que peu nombreuses, aboutissaient à une absence de toxicité germinale chez le mâle. Cette conclusion apparaissait vraisemblable du fait que le métabolisme des isomères majoritaires des dérivés propyléniques ne conduit pas à la formation d'alkoxyacides et alkoxyaldéhydes bien connus pour être responsables de la toxicité reproductive des éthers de glycol. Toutefois, une interrogation majeure persistait du fait de la pré-

sence d'isomères minoritaires, générateurs d'alkoxyacides, et de l'absence d'études sur la toxicité testiculaire du 1PG2ME, l'isomère bêta minoritaire du PGME, l'éther de glycol le plus fréquemment employé dès les années 1990. Concernant la toxicité des éthers de glycol sur les gonades femelles, on ne disposait que d'un nombre très réduit d'études permettant de suspecter un effet pour quelques uns d'entre eux. Les résultats sont résumés dans le tableau 4.I.

Tableau 4.I : Synthèse des données sur la reproduction disponibles en 1999

Effets sur les gonades mâles chez l'animal

- Éthers de glycol pour lesquels un effet sur les gonades mâles est démontré et ayant un effet sur la fertilité : EGME, EGEE
- Éthers de glycol ayant probablement un effet sur les gonades mâles : EGnPE, EGPhE, EGDME, DEGME, DEGEE, DEGBE, DEGDME, TEGDME
- Éthers de glycol n'ayant probablement pas d'effet sur les gonades mâles : EGBE, 2PG1ME

Effets sur les gonades femelles chez l'animal

- Éthers de glycol ayant probablement un effet sur les gonades femelles : EGME, EGEE, EGBE, EGPhE, TEGDME
-

EGME

De nombreuses études destinées à approfondir le mécanisme cellulaire et moléculaire de la toxicité testiculaire des éthers de glycol ont été réalisées en utilisant l'EGME ou son métabolite, l'acide méthoxyacétique (MAA). Ces études ont confirmé sans ambiguïté que la toxicité au niveau cellulaire se manifeste principalement sur les spermatozoïdes, parfois les spermatides, aboutissant à une mort cellulaire par un mécanisme d'apoptose (Krishnamurthy et coll., 1998 ; Matsui et Takahashi, 1999). L'apoptose des cellules germinales est un processus normal au cours de la spermatogenèse, nécessaire au maintien d'un nombre critique de cellules germinales par rapport aux cellules nourricières (cellules de Sertoli) à des stades spécifiques de maturation. Le processus d'apoptose est favorisé par l'administration d'EGME (ou de MAA) conduisant à un arrêt de la méiose des cellules germinales et à une interruption de la production de spermatozoïdes.

L'apoptose induite par l'EGME/MAA était déjà bien connue mais les mécanismes d'initiation demeuraient largement inexplorés. L'intervention de diverses protéines de la famille Bcl-2, régulatrices de l'activation des caspases, a été clairement démontrée dans l'apoptose des spermatozoïdes induite par le MAA (Yan et coll., 2000). L'activation des protéases caspases est une étape clef de l'apoptose car ces enzymes induisent la fragmentation de l'ADN. Un autre mécanisme intervenant dans l'activation des caspases est le relargage du cytochrome c de la mitochondrie par le MAA (Rao et Shaha, 2002). Plusieurs travaux ont également souligné l'importance de l'interaction entre les

cellules de Sertoli et les cellules germinales dans l'induction de la toxicité de l'EGME/MAA et dans le déroulement du processus apoptotique des spermatoctes. Le MAA induit l'activation de plusieurs kinases : PKC, CaMKII, Src, MLCK (Jindo et coll., 2001). Il induit également des modifications de l'expression de protéines du stress oxydatif dans les cellules de Sertoli ainsi que dans les cellules germinales (Syed et Hecht, 1998). Par un procédé d'hybridation soustractive chez la souris, Wang et Chapin (2000) ont pu identifier un certain nombre de protéines exprimées spécifiquement par l'action du MAA dans des spermatoctes mais aussi dans d'autres cellules : les cellules de Sertoli et les cellules interstitielles. Selon une étude utilisant des cultures de tubules séminifères de rats (Barone et coll., 2004), l'apoptose de la cellule germinale se produirait à la suite de la transmission de signaux pro-apoptotiques en provenance de la cellule de Sertoli, cette dernière étant alors la cellule dans laquelle l'action toxique initiale se produirait.

Tirado et coll. (2003 et 2004) ont montré comment le MAA altère l'expression du récepteur aux androgènes et de l'ARN messager de l'*Androgen binding protein* dans la cellule de Sertoli et comment il augmente l'expression de l'ARN messager du récepteur bêta des œstrogènes (ER β) des spermatoctes pachytènes. L'activation ainsi produite par le MAA à une concentration de 5 mM est similaire à celle induite par de l'œstradiol à 1 nM. Les auteurs soulèvent l'hypothèse selon laquelle le MAA interagit avec le récepteur ER β dans le cytoplasme du spermatoctes en évitant la progression de la première division méiotique. En utilisant des cellules tumorales hépatiques exprimant le récepteur ER β , Jansen et coll. (2004) ont montré que le MAA, à une concentration de 5 mM, potentialise l'activité transcriptionnelle du récepteur ER β en présence de concentrations saturantes en œstradiol (100 nM ou plus). Cette action du MAA ne s'exerce pas au niveau du récepteur, car aucune liaison du MAA au récepteur ER β n'est observée et le MAA ne déplace pas la liaison de l'œstradiol à son récepteur. Une potentialisation de l'activité transcriptionnelle du récepteur à la progestérone des cellules tumorales de sein a été également observée en présence de concentrations saturantes du progestagène R5020. Selon les auteurs, le MAA agirait comme un perturbateur endocrinien ; ils proposent que l'exposition au MAA (en fait à l'EGME) soit évitée chez les femmes recevant des stéroïdes sexuels exogènes, par exemple lors de la prise de contraceptifs oraux ou lors de traitements pour la ménopause. Cette recommandation ne semble pas pertinente : en effet, pour la concentration de MAA à partir de laquelle les auteurs observent un effet de potentialisation (5 mM de MAA, c'est à dire ~ 300 mg/l), en présence de stéroïdes à des concentrations supra-physiologiques, de nombreux effets délétères sont déjà largement observables sur la fonction de reproduction. Ces effets peuvent être expliqués par des mécanismes de toxicité indépendamment de tout recours au concept de perturbation endocrinienne.

Le MAA augmente l'expression de PER15, une protéine de liaison aux acides gras, spécifiquement au niveau des testicules (Kido et Namiki, 2000) ; ce résul-

tat n'est pas surprenant étant donnée la similitude structurale entre le MAA et les acides gras à courte chaîne. L'EGME induit une augmentation de l'expression de la kinase Src (tyrosine kinase pp60) dans la cellule de Sertoli mais également, quelques heures après, dans la cellule germinale en voie d'apoptose ; ceci souligne encore les interactions entre cellules de Sertoli et cellules germinales (Wang et coll., 2000). Le rôle de la kinase Src semble central car son inhibition spécifique prévient la dégénérescence des spermatocytes. L'étude de l'expression de la protéine ELP (*endozepine-like peptide*), identifiée parmi un clone d'ADNc spécifique des cellules germinales, a permis d'apporter pour la première fois la preuve d'une récupération clonale suite à la déplétion des spermatocytes au stade pachytène après traitement par le MAA (Pusch et coll., 2000).

La capacité de fertilisation *in vitro* de spermatozoïdes de rats ayant reçu des doses croissantes d'EGME (0, 5, 15, 50 ou 100 mg/kg) en injection intrapéritonéale a été étudiée par Berger et coll. (2000). À partir de 50 mg/kg, l'EGME réduit de manière significative la capacité de pénétration d'ovocytes dépourvus de leur zone pellucide alors que la pénétration d'ovocytes avec des cellules du cumulus est affectée à partir de 100 mg/kg. Par ailleurs, l'administration d'EGME à des concentrations variant de 0,15 à 0,25 % dans l'eau de boisson chez des rates pendant 14 jours induit une diminution de l'ovulation à partir d'une concentration à 0,15 % et une suppression de celle-ci à partir de 0,25 % (Berger et coll., 2000).

EGEE

Chez le rat, l'effet testiculaire de l'EGEE est diminué par la co-administration de toluène et de xylène. Ce phénomène est lié à la participation de l'alcool déshydrogénase (ADH) dans le métabolisme du toluène et du xylène. Il existerait une inhibition compétitive de l'oxydation de l'EGEE par les benzyls alcools générés par le toluène et le xylène (Chung et coll., 1999 ; Yu et coll., 1999). Il avait déjà été montré que l'inhibition de l'ADH par des substances comme le pyrazole prévient les effets testiculaires induits par l'EGME et l'EGEE (Foster et coll., 1983).

Une étude coréenne a comparé chez des rats adultes âgés de 8 semaines et chez des rats pubères de 4 semaines les effets testiculaires de l'EGEE administré par gavages pendant 4 semaines. Alors que l'EGEE à la dose de 400 mg/kg/j induit une diminution du poids testiculaire et du nombre de cellules germinales haploïdes chez les rats adultes, aucun effet n'a été observé chez les rats pubères (Yoon et coll., 2001). Aucune explication n'est avancée par les auteurs pour cette apparente résistance des animaux pubères.

DEGBE

Le DEGBE a été administré quotidiennement par voie orale (eau de boisson) pendant 13 semaines à des rats adultes mâles et femelles à des doses de 0, 50,

250 ou 1 000 mg/kg/j (Johnson et coll., 2005). Aucune modification du nombre de cellules spermatiques (spermatides, spermatozoïdes), de la morphologie ou de la mobilité des spermatozoïdes n'a été observée pour la dose la plus élevée (1 000 mg/kg/j). Aucune modification du poids ni modification macroscopique des ovaires et de l'utérus n'ont été signalées dans cette étude chez les femelles, justifiant l'absence d'examen histopathologique détaillé de ces organes.

DEGEE

Une étude a été réalisée en administrant du DEGEE par gavage, à des doses de 0, 300, 1 000 et 2 000 mg/kg/j, à des rats mâles pendant 63 jours et à des rats femelles pendant 14 jours avant leur accouplement. Le traitement a été poursuivi chez les femelles jusqu'au 7^e jour de gestation et jusqu'au jour de l'euthanasie chez les mâles. Aucune modification histologique n'a été observée sur les gonades mâles ou femelles et aucune atteinte de la capacité de reproduction de ces animaux n'a été notée pour chacune des doses testées (Gattefossé, rapport non publié, 2001 et 2002).

DEGDME

Le DEGDME a été étudié par inhalation, 6 h par jour, 5 jours par semaine pendant deux semaines chez 20 rats mâles et 20 rats femelles à des doses de 110, 370 et 1 100 ppm ; les effets de ce traitement ont été suivis pendant une période de récupération de 84 jours (Valentine et coll., 1999). Chez les mâles, au terme des deux semaines d'exposition, une réduction du poids absolu de la prostate et des vésicules séminales a été observée pour la dose de 370 ppm ; le poids absolu et le poids relatif des testicules ont également diminué pour la dose de 1 100 ppm. À la plus faible dose (110 ppm), une légère atrophie testiculaire est observée mais elle est également présente dans une même proportion chez les animaux témoins. Cependant, ces lésions perdurent uniquement chez les animaux exposés, pendant au moins 42 jours durant la période de récupération, aboutissant à un NOAEL (*no-observed-adverse effect level*) inférieur à 100 ppm pour des effets testiculaires. La toxicité du DEGDME est expliquée par une fraction qui est métabolisée en MAA. Chez les femelles, aucune modification du poids des organes génitaux n'est constatée. Le NOAEL chez les femelles a été établi à 370 ppm sur la base d'une augmentation du poids hépatique. Ces résultats sont similaires à ceux précédemment obtenus par Lee et coll. (1989).

TEGME

Le TEGME a été étudié chez le rat CD en administration par voies cutanée et orale (Gill et coll., 1998). Par voie dermique, le TEGME a été administré

à l'aide d'un pansement semi-occlusif chez 10 rats mâles et 10 rats femelles durant 13 semaines, 6 h par jour, 5 jours par semaine et à des doses de 0, 0,4, 1,2 et 4 g/kg. Chez les mâles, des modifications testiculaires sévères ont été observées chez un animal sur 10 à la dose de 4 g/kg/j ; des effets mineurs ont été notés chez un animal sur 10 à la dose de 1,2 g/kg/j. Cependant, les lésions observées sont différentes. À la dose de 4 g/kg/j, on constate une atteinte des spermatides et non pas des spermatoocytes comme cela est habituellement retrouvé avec d'autres éthers de glycol tels que l'EGME. Les lésions observées chez l'animal exposé à la dose de 1,2 g/kg/j se caractérisent par l'apparition de spermatoocytes plurinucléés. Selon les auteurs, ces lésions présentes chez 10 % des animaux sont considérées comme non spécifiques et correspondent à celles retrouvées spontanément dans les données historiques chez le rat CD. Chez les femelles, aucune modification du cycle ovarien évalué par frottis vaginal ni du poids des organes génitaux ni de l'histopathologie des ovaires n'a été observée pour chacune des doses testées.

Le TEGME a été administré par voie orale, dans l'eau de boisson (*ad libitum*), pendant 13 semaines à 15 rats mâles et 15 rats femelles, à des doses de 0, 0,4, 1,3 et 4,2 g/kg/j (Gill et coll., 1998). Chez les mâles, des lésions testiculaires caractéristiques affectant les spermatoocytes ont été observées aux plus fortes doses (4,2 g/kg/j). Une légère diminution du poids testiculaire sans lésion microscopique s'est produite pour la dose de 1,3 g/kg/j. À cette dose, un animal sur 15 présentait une atrophie importante des tubules séminifères avec une perte importante de tous les types cellulaires à l'exception des cellules de Sertoli. Selon les auteurs, les effets testiculaires observés aux plus fortes doses seraient dus à une faible métabolisation du TEGME en MAA et/ou à une contamination du TEGME par de l'EGME de l'ordre de 1 %. Dans cette étude, en cohérence avec celle mentionnée dans le rapport ECETOC de 1995, la dose sans effet testiculaire serait de 0,4 g/kg/j.

PGME

Le 2PG1ME et son isomère minoritaire, le 1PG2ME, ont fait l'objet de plusieurs études. Des travaux antérieurs ont montré que le PGME n'induit pas d'effets testiculaires. Mais comme évoqué précédemment, des interrogations subsistaient sur les effets imputables à son isomère minoritaire du fait de sa capacité à se transformer en acide alkoxypropionique. Une étude de Carney et coll. (1999) a consisté à exposer pendant 10 semaines des rats Dawley adultes mâles et femelles sur deux générations, avant accouplement, à des vapeurs de PGME (contenant 2 % de l'isomère minoritaire bêta) durant 6 h par jour et 5 jours par semaine à des doses de 0, 300, 1 000 et 3 000 ppm (correspondant à 0, 396, 1 325 et 3 974 mg/kg/j respectivement). Chez les mâles, comme chez les femelles, de la première et deuxième génération, l'exposition à des doses de 3 000 ppm induit une atteinte significative de leur fertilité ainsi que de la survie de leur progéniture. Cependant, ces effets

sur la reproduction sont accompagnés d'une très importante toxicité générale et maternelle, caractérisée par une sédation extrême. À la dose de 1 000 ppm, aucun effet n'est observé sur la fertilité des mâles ou des femelles. Cette concentration en PGME (1,3 g/kg/j) correspond à une dose de 26 mg/kg/j en isomère minoritaire bêta. Les effets de l'isomère minoritaire du PGME sur la fertilité ont été étudiés récemment par Lemazurier et coll. (2005) dans une étude sur 3 générations et d'administration par voie orale. Du PGME contenant soit 0,5 %, soit 1,5 % d'isomère minoritaire bêta, a été administré à des rats Sprague Dawley mâles et femelles, avant accouplement, dans l'eau de boisson pendant 60 jours (mâles) et 15 jours (femelles) à des concentrations de 0, 2, 5, 10 et 15 %. Les durées d'exposition de 60 et 15 jours correspondent respectivement à la durée d'un cycle de gamétogenèse chez les mâles et les femelles. L'emploi de ces deux mélanges a permis de distinguer les effets de l'isomère alpha majoritaire de celui de l'isomère bêta minoritaire. Seule la première génération parentale a été exposée. L'effet le plus pertinent de cette étude est une diminution significative du nombre de spermatozoïdes épидидymaires chez les mâles exposés (première génération) à partir d'une dose d'isomère bêta de 14,55 mg/kg/j. La NOAEL proposée est de 11,50 mg/kg/j. Une diminution de la taille des portées a été notée chez les femelles exposées à un mélange contenant 16,75 mg/kg/j d'isomère bêta.

Effets au cours de la gestation et sur le développement

L'expertise collective Inserm de 1999 avait classé les effets des éthers de glycol sur le développement en trois types : toxicité chez les femelles gestantes, mortalité fœtale et malformations. Comme pour les effets sur la fertilité (masculine), la toxicité sur le développement (fœtotoxicité et tératogénicité) a été associée aux éthers de glycol de la série éthylénique de bas poids moléculaire, en particulier les dérivés méthylés et éthylés. Mais des incertitudes persistaient pour certains éthers de glycol : en effet, certaines données étaient préliminaires ou insuffisamment étayées, d'autres n'existaient pas encore. Bien que les éthers de glycol de la série propylénique, à l'exception des isomères minoritaires générateurs d'alkoxyaldéhydes et d'alkoxyacides, ne soient pas a priori concernés par une toxicité élevée, on ne disposait de données publiées sous la forme de résultats et par conséquent ces données étaient non analysables. Les résultats sont résumés dans le tableau 4.II.

EGME/EGEE

Le MAA, métabolite de l'EGME, induit chez des souris gestantes une diminution de l'expression de la protéine de liaison p40 à la laminine dans les bourgeons embryonnaires des membres (Ruyani et coll., 2003), suggérant un

rôle de ce processus dans le renforcement de l'apoptose déjà décrit par Greene et coll. (1987) au niveau des cellules rostrales du bourgeon des membres chez des animaux exposés à de l'EGME.

Tableau 4.II : Synthèse des données sur le développement disponibles en 1999

Effets sur le développement chez l'animal

- Éthers de glycol pour lesquels un effet sur le développement (foetotoxicité et tératogénicité) est démontré : EGME, EGEE
 - Éthers de glycol pour lequel un effet foetotoxique sans effet tératogène est démontré : EGBE
 - Éthers de glycol pour lesquels il existe une forte suspicion d'un effet sur le développement (foetotoxicité et tératogénicité) : DEGME, DEGDME, TEGDME, EGDEE, 1PG2ME
 - Éthers de glycol pour lesquels il existe une forte suspicion d'un effet foetotoxique sans effet tératogène : TEGME
 - Éthers de glycol pour lesquels des données expérimentales suggèrent un effet sur le développement (foetotoxicité et tératogénicité) : EGDME, DEGDEE, EGnPE
 - Éthers de glycol pour lesquels des données expérimentales suggèrent une innocuité : 2PG1ME, DPGME
-

L'EGME induit la mort cellulaire de cellules de la crête neurale et des régions médianes du tube neural antérieur chez l'embryon de souris au 8^e jour de développement (gestation) (Ambroso et coll., 1998). Cette mort cellulaire présente toutes les caractéristiques d'un processus apoptotique et suggère une relation quantitative entre la mort cellulaire induite par l'EGME et la survenue d'anomalies du tube neural.

Il avait été rapporté que l'EGME et l'EGEE augmentaient le temps de gestation chez la rate et la souris en absence de toxicité maternelle. Marty et Loch-Caruso (1998) ont testé l'hypothèse, sans succès, que cet effet pourrait être la conséquence d'une inhibition des jonctions communicantes de la musculature lisse du myomètre.

DEGEE

L'effet du DEGEE sur le développement a été étudié en administrant par gavage des doses de 0, 300, 1 000 et 2 000 mg/kg/j à des femelles gestantes, du 6^e au 17^e jour de gestation (Gattefossé, rapport non publié, 2001 et 2002). Les animaux ont été euthanasiés au 20^e jour. Le nombre d'implantations utérines était légèrement plus faible chez le groupe ayant reçu la dose de 300 mg/kg/j. Cette diminution est vraisemblablement liée à une augmentation accidentelle de pertes pré-implantatoires. En effet, les données pré-implantatoires étaient comparables chez les animaux traités à plus forte dose (1 000 et 2 000 mg/kg/j) et chez les animaux témoins (non traités). Aucune

modification du poids fœtal, du nombre de fœtus vivants et du *sex-ratio* n'a été observée. Bien qu'aucune malformation ne soit rapportée, une augmentation de retard d'ossification, principalement des os du crâne, a été constatée aux doses de 1 000 et 2 000 mg/kg/j. Une légère toxicité maternelle est présente à la dose de 2 000 mg/kg/j ; elle est caractérisée par une réduction de consommation alimentaire et par un gain de poids. Selon les auteurs du rapport, la NOAEL est de 1 000 mg/kg/j pour la toxicité maternelle et de 300 mg/kg/j pour le développement.

DEGDME

Une étude a été réalisée chez le rat (Driscoll et coll., 1998) en administrant par inhalation du DEGDME à des rats femelles, 6 h par jour, du 7^e au 16^e jour de gestation, à des doses de 0, 25, 100 et 400 ppm. Une fœtotoxicité, constatée par une diminution du poids fœtal, a été observée à partir de 100 ppm, la dose de 400 ppm entraînant une mortalité fœtale totale. À la dose de 25 ppm, l'incidence de variations (retards d'ossification et côtes supplémentaires) augmente.

PGME

Carney et coll (1999) ont exposé des rates Dawley adultes pendant la gestation et la lactation à des vapeurs de PGME (contenant 2 % de l'isomère minoritaire bêta), 6 h par jour et 7 jours par semaine, à des doses de 0, 300, 1 000 et 3 000 ppm (correspondant à 0, 396, 1 325 et 3 974 mg/kg/j respectivement). Aucun effet sur le déroulement de la gestation, de la viabilité et de l'intégrité de la progéniture n'a été observé pour chacune des doses administrées. Seul un retard pubertaire a été constaté (retard dans l'ouverture vaginale et dans la séparation du prépuce) pour la dose de 1 000 ppm en présence de toxicité maternelle.

Cette concentration en PGME (1 325 mg/kg/j) correspond à une dose de 26 mg/kg/j en isomère minoritaire bêta. Le MPA (acide méthoxypropionique), métabolite acide produit par l'isomère minoritaire bêta du PGME, a été administré par gavage à des lapines gestantes entre le 7^e et le 19^e jour de gestation et à des doses de 0, 10, 26, et 78 mg/kg/j (Carney et coll., 2003). À la dose de 78 mg/kg/j, une augmentation des résorptions fœtales et des malformations (essentiellement des fusions des côtes) a été constatée en présence de toxicité maternelle importante. La NOAEL a été établie à 26 mg/kg/j.

En conclusion, depuis 1999, le mécanisme de toxicité testiculaire des éthers de glycol a été approfondi, en particulier, le processus d'apoptose de la lignée germinale et le processus d'intervention de la cellule de Sertoli dans ce der-

nier. Les seuls indices d'une possible toxicité testiculaire du DEGBE provenaient d'une étude datant de 1948 alors que des rapports ultérieurs de l'industrie ne l'ont jamais confirmée. L'étude récente de Johnson et coll. (2005) montre une absence de toxicité testiculaire du DEGBE.

Les études qui avaient été réalisées dans le passé avec le DEGEE, certaines datant de 1942, ne permettaient pas d'aboutir à des conclusions significatives quant aux effets testiculaires. Le rapport communiqué par la société Gattefossé met en évidence une absence de toxicité testiculaire, y compris à des doses relativement élevées.

L'étude de Valentine et coll. (1999) concernant le DEGDME ne fait que confirmer les études antérieures montrant une toxicité testiculaire. Aucune NOAEL n'a pu être calculée et en tout état de cause elle se situe en dessous de 110 ppm pour une absorption par inhalation.

L'étude de Gill et coll. (1998) sur le TEGME confirme les données non publiées de l'industrie, analysées dans l'expertise Inserm de 1999, qui signalaient un effet testiculaire. Cette étude propose une NOAEL de 0,4 g/kg/j.

Concernant le PGME, Lemazurier et coll. (2005) montrent des effets testiculaires pour l'isomère minoritaire (1PG2ME) et la NOAEL est établie à 11,5 mg/kg/j.

Aucun effet sur les gonades femelles n'a été observé en relation avec le DEGBE, le DEGDME et le TEGME. Quant à l'isomère bêta du PGME, la diminution de la taille des portées des femelles exposées pourrait être expliquée, selon les auteurs, par des pertes implantatoires et non pas par une atteinte des gonades.

En ce qui concerne les effets au cours de la gestation et du développement, quelques études ont apporté des informations sur le mécanisme d'induction de certaines malformations induites par l'EGME/MAA et suggèrent l'intervention de processus apoptotiques à des moments précis du développement. Pour le DEGEE, une étude a montré une absence d'effet notoire sur le développement avec une NOAEL à 300 mg/kg/j basée sur l'apparition de retards d'ossification. Des travaux relatifs au DEGDME ont validé les résultats antérieurs montrant une toxicité sur le développement. Concernant le PGME, Carney et coll. (1999) confirment que les effets délétères sur le développement sont confinés à l'isomère minoritaire bêta.

BIBLIOGRAPHIE

AMBROSO JL, STEDMAN DB, ELSWICK BA, WELSCH F. Characterization of cell death induced by 2-ME in CD-1 mouse embryos on gestation day 8. *Teratology* 1998, **58** : 231-240

BARONE F, AGUANNO S, D'ALESSIO A, D'AGOSTINO A. Sertoli cell modulates MAA-induced apoptosis of germ cells throughout voltage-operated calcium channels. *FASEB* 2004, **18** : 353-354

BERGER T, MILLER MG, HORNER CM. *In vitro* fertilization after *in vivo* treatment of rats with three reproductive toxicants. *Reprod Toxicol* 2000, **14** : 45-53

CARNEY EW, CRISSMAN JW, LIBERACKI AB, CLEMENTS CM, BRESLIN WJ. Assessment of adult and neonatal reproductive parameters in Sprague-Dawley rats exposed to PGME vapors for two generations. *Toxicol Sci* 1999, **50** : 249-258

CARNEY EW, POTTENGER LH, JOHNSON KA, LIBERACKI AB, TORNESI B, et coll. Significance of 2-MPA formed from 2PG1ME : integration of pharmacokinetic and developmental toxicity assessments in rabbits. *Toxicol Sci* 2003, **71** : 217-228

CHUNG WG, PARK CS, LEE KH, ROH HK, CHA YN. Decreased formation of ethoxyacetic acid from EGEE and reduced atrophy of testes in male rats upon combined administration with toluene and xylene. *Toxicol Lett* 1999, **104** : 143-150

DRISCOLL CD, VALENTINE R, STAPLES RE, CHROMEY NC, KENNEDY GL JR. Developmental toxicity of diglyme by inhalation in the rat. *Inhalation Drug Chem Toxicol* 1998, **21** : 119-136

ECETOC WORKING GROUP. The Toxicology of Glycol Ethers and its Relevance to Man. Technical Report 64. European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals, Bruxelles, 1995

FOSTER PM, CREASY DM, FOSTER JR, THOMAS LV, COOK MW, GANGOLLI SD. Testicular toxicity of ethylene glycol monomethyl and monoethyl ethers in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1983, **69** : 385-399

GATTEFOSSÉ. Reproduction/development toxicity test: fertility study - segment I, 2001. Rapport non publié

GATTEFOSSÉ. Reproduction/development toxicity test: embryofetal development study - segment II, 2002. Rapport non publié

GILL MW, FOWLER EH, GINGELL R, LOMAX LG, CORLEY RA. Suchronic dermal toxicity and oral neurotoxicity of triethylene glycol monomethyl ether in CD rats. *Int J Toxicol* 1998, **17** : 1-22

GREENE JA, SLEET RB, MORGAN KT, WELSCH F. Cytotoxic effects of ethylene glycol monomethyl ether in the forelimb bud of the mouse embryo. *Teratology* 1987, **36** : 23-34

INSERM. Ethers de Glycol : Quels risques pour la santé ? Expertise collective Inserm, Éditions Inserm, Paris, 1999

JANSEN MS, NAGEL SC, MIRANDA PJ, LOBENHOFER EK, AFSHARI CA, MCDONNELL DP. Short-chain fatty acids enhance nuclear receptor activity through mitogen-activated protein kinase activation and histone deacetylase inhibition. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004, **101** : 7199-7204

JINDO T, WINE RN, LI LH, CHAPIN RE. Protein kinase is central to rat germ cell apoptosis induced by methoxyacetic acid. *Toxicol Pathol* 2001, **29** : 607-616

JOHNSON KA, BAKER PC, KAN HL, MAURISSEN JP, SPENCER PJ, MARTY MS. Diethylene glycol monobutyl ether (DGBE): two- and thirteen-week oral toxicity studies in Fisher 344 rats. *Food Chem Toxicol* 2005, **43** : 467-481

KIDO T, NAMIKI H. Expression of testicular fatty acid-binding protein PERF 15 during germ cell apoptosis. *Develop Growth Differ* 2000, **42** : 359-366

KRISHNAMURTHY H, WEINBAUER GF, ASLAM H, YEUNG CH, NIESHLAG E. Quantification of apoptotic testicular germ cells in normal and methoxyacetic acid-treated mice as determined by flow cytometry. *J Androl* 1998, **19** : 710-717

LEE KP, KINNEY LA, VALENTINE R. Comparative testicular toxicity of bis(2-methoxyethyl) ether and 2-methoxyethanol in rats. *Toxicology* 1989, **59** : 239-258

LEMAZURIER E, LECOMTE A, ROBIDEL F, BOIS F. Commercial propylene glycol monomethyl ether through drinking water: a 3-generational study focusing on isomer beta on reproductive and developmental parameters in rat. *Toxicol Indus Health* 2005 (sous presse)

MARTY MS, LOCH-CARUSO R. 2-methoxyethanol inhibits gap junctional communication in rat myometrial myocytes. *Cell Biol Toxicol* 1998, **14** : 199-210

MATZUI H, TAKAHASHI M. A novel quantitative morphometry of germ cells for the histopathological evaluation of rat testicular toxicity. *J Toxicol Sci* 1999, **24** : 17-25

PUSCH W, BALVERS M, WEINBAUER GF, IVELL R. The rat endozepine-like peptide gene is highly expressed in late haploid stages of male germ cell development. *Biol Reprod* 2000, **63** : 763-768

RAO AVS, SHAHA C. N-acetylcysteine prevents MAA induced male germ cell apoptosis: role of glutathione and cytochrome c. *FEBS Letters* 2002, **527** : 133-137

RUYANI A, SUDARWATI S, SUTASURYA LA, SUMARSONO SH, GLOE T. The laminin binding protein p40 is involved in inducing limb abnormality of mouse fetuses as the effects of methoxyacetic acid treatment. *Toxicol Sci* 2003, **75** : 148-153

SYED V, HECHT NB. Rat pachytene spermatocytes down-regulate a Polo-like kinase and up-regulated a thiol-specific antioxidant protein, whereas sertoli cells down-regulate a phosphodiesterase and up-regulated an oxidative stress protein after exposure to methoxyethanol and methoxyacetic acid. *Endocrinology* 1998, **139** : 3503-3511

TIRADO OM, MARTINEZ ED, RODRIGUEZ OC, DANIELSEN M, SELVA DM, et coll. Methoxyacetic acid dysregulation of androgen receptor and androgen-binding protein expression in adult rat testis. *Biol Reprod* 2003, **68** : 1437-1446

TIRADO OM, SELVA DM, NORAN T, SUAREZ-QUIAN CA, JANSEN M, et coll. Increased expression of estrogen receptor B in pachytene spermatocytes after short-term methoxyacetic acid administration. *J Androl* 2004, **25** : 84-94

VALENTINE R, O'NEILL AJ, LEE KP, KENNEDY GL JR. Subchronic inhalation toxicity of diglyme. *Food Chem Toxicol* 1999, **37** : 75-86

WANG W, CHAPIN RE. Differential gene expression detected by suppression subtractive hybridisation in the EGME induced testicular lesion. *Toxicol Sci* 2000, **56** : 165-174

WANG W, WINE RN, CHAPIN RE. Rat testicular Src: normal distribution and involvement in EGME induced apoptosis. *Tox Appl Pharmacol* 2000, **163** : 125-134

YAN W, SAMSON M, JEGOU B, TOPPARI J. Bcl-w forms complexes with Bax and Bak, and elevated ratios of Bax/Bcl-w and Bak/Bcl-w correspond to spermatogonial and spermatocyte apoptosis in the testis. *Mol Endocrinol* 2000, **14** : 682-699

YOON CY, HONG CM, SONG JY, CHO YY, CHOI KS, et coll. Effect of ethylene glycol monoethyl ether on the spermatogenesis in pubertal and adult rats. *J Vet Sci* 2001, **2** : 47-51

YU IJ, LEE JY, CHUNG YH, KIM KJ, HAN JH, et coll. Coadministration of toluene and xylene antagonized the testicular toxicity but not the haematopoietic caused by EGME in Sprague Dawley rats. *Toxicol Lett* 1999, **109** : 11-20

5

Études épidémiologiques des effets sur la reproduction et le développement

Les études épidémiologiques rapportées dans ce chapitre portent uniquement sur les effets des éthers de glycol sur la reproduction et le développement. En effet, aucune étude épidémiologique n'a été publiée depuis l'expertise de 1999 sur les effets des éthers de glycol sur les cancers. Seront successivement présentées : les études évaluant les effets sur la fertilité masculine, les atteintes de la fertilité chez la femme, les effets sur les avortements spontanés lors d'une exposition maternelle et les risques de malformations congénitales.

Effet des éthers de glycol sur la reproduction

La toxicité des éthers de glycol sur la reproduction humaine (effets testiculaires chez l'homme, effet sur la fertilité chez la femme) a fait l'objet de plusieurs études épidémiologiques depuis l'expertise de 1999 (Inserm, 1999). Ces études sont décrites et leurs résultats résumés dans le tableau 5.I.

Fonctions testiculaires et altération de la fertilité chez l'homme

Sur les bases d'un ensemble de résultats, l'expertise collective de 1999 avait conclu en faveur de l'existence d'un lien entre infertilité masculine (diminution de la concentration du sperme, difficulté à concevoir) et exposition professionnelle à l'EGEE, l'EGME et leurs acétates, et peut-être à d'autres éthers de glycol.

Depuis 1999, une étude du risque d'altération de la fertilité chez l'homme a été conduite à Taïwan dans une usine de fabrication de stratifiés plaqués cuivre. Quarante sept hommes directement exposés à l'EGME ont été comparés à 93 hommes indirectement exposés (Shih et coll., 2000). Au niveau des postes de travail, les expositions moyennes étaient de 3,98 ppm

Tableau 5.1 : Études épidémiologiques sur la reproduction (résultats des études publiées depuis 1999)

Référence Pays Type d'étude	Population (secteur, effectifs)	Exposition prédominante (Période d'exposition) Mesure	Résultats
Shih et coll., 2000 Taïwan Transversale	Fabrication de stratifiés plaqués de cuivre 47 hommes directement exposés 93 indirectement exposés	EGME (année 1999) Conc. atmosphérique : 3,98 ppm Conc. urinaire MAA : 19,95 mg/g créat Conc. atmosphérique : < 0,28 ppm Conc. urinaire MAA : 1,26 mg/g créat	Analyse de sperme chez 14 sujets volontaires exposés et 13 indirectement exposés Aucune différence sur le volume de l'éjaculat, le nombre de spermatozoïdes ou leur morphologie. pH plus bas (7,08) chez les exposés par rapport au groupe de comparaison (7,51 p < 0,005)
Chen et coll., 2002 Taïwan Cohorte rétrospective	Semi-conducteurs 88 femmes secteur fabrication (188 grossesses exposées) 85 femmes hors-fabrication (104 grossesses non exposées)	Évaluation qualitative Exposition aux éthers de l'éthylène glycol présents dans cette industrie (période : 1990-1997) Autres produits renseignés : arsenic, fluorure d'hydrogène, isopropanol, composés phosphorés, radiofréquences	Secteur de travail RF* IC 95 % Hors-fabrication 1,00 Photolithographie 0,77 0,45-1,32 Exposition aux EG 0,59 0,37-0,94 Aucun autre secteur ou produit n'est associé à une fécondabilité réduite NB : 4 femmes qui avaient déclaré fumer ou consommer de l'alcool ont été exclues
Hsieh et coll., 2005 Taïwan Transversale	Semi-conducteurs 473 femmes secteur fabrication 133 femmes hors-fabrication	Évaluation qualitative Exposition aux éthers de l'éthylène glycol présents dans cette industrie (période : 1990-1997) Autres produits renseignés : arsenic, fluorure d'hydrogène, isopropanol, composés phosphorés, radiofréquences	Les caractéristiques des cycles menstruels ont été recueillies par questionnaire Risque augmenté de cycles longs (> 35 jours) dans les secteurs photolithographie et diffusion Risque augmenté de cycles longs (> 35 jours) chez les femmes exposées aux EG et à l'isopropanol (OR = 5,0 [1,7-14]) et chez celles exposées au fluorure d'hydrogène, à l'isopropanol et aux composés phosphorés (OR = 3,5 [1,1-11]) Ajustement sur âge, niveau d'études, consommation de tabac, horaires et années de travail, contraception, gravidité, score de stress, indice de masse corporelle, histoire obstétricale

* Rapport de fécondabilité (RF) ajusté sur âge, horaires et années de travail, contraception, gravidité, score psychiatrique, rapports sexuels.
créat : créatinine ; conc : concentration ; EG : éthers de glycol.

(concentration atmosphérique) et 19,95 mg/g de créatinine (dosage d'acide méthoxyacétique urinaire) dans le groupe exposé, et inférieures à 0,28 ppm et 1,26 mg/g de créatinine respectivement dans le groupe indirectement exposé. Quatorze sujets exposés et 13 indirectement exposés ont accepté un prélèvement de sperme. Aucune différence sur le volume de l'éjaculat, le nombre de spermatozoïdes ou leur morphologie n'a été observée entre les deux groupes. Le pH était plus bas (7,08) chez les exposés par rapport au groupe de comparaison (7,51 ; $p < 0,005$). Le faible nombre de sujets rend l'interprétation de ces résultats extrêmement limitée et n'apporte pas d'information supplémentaire tendant à modifier les conclusions de l'expertise précédente.

Deux études épidémiologiques destinées à évaluer les conséquences des expositions professionnelles aux éthers de glycol sur la fertilité masculine ont été réalisées par l'unité 625 de l'Inserm auprès de 240 volontaires, agents de la Ville de Paris et de la RATP (Multigner et coll., 2004). Les participants ont fait l'objet d'un examen médical détaillé et leur fertilité a été évaluée par l'analyse des caractéristiques du sperme et la mesure des hormones de la reproduction dans le sang. Les expositions récentes aux éthers de glycol ont été déterminées par le dosage des métabolites urinaires en fin de poste de travail hebdomadaire. Les expositions antérieures aux éthers de glycol ont été estimées à l'aide d'un questionnaire portant sur les préparations chimiques employées au cours des 15 à 20 dernières années. La consultation de plus de 4 000 fiches de données de sécurité a permis d'estimer avec précision la répartition des éthers de glycols dans les préparations chimiques mises à disposition des agents au cours des années. Alors qu'en 1990 les éthers de glycol reprotoxiques étaient présents dans plus de 60 % des préparations à base d'éthers de glycol, ce pourcentage est descendu à 3 % à partir de 1995. Cette évolution favorable a été confirmée par les très faibles concentrations de métabolites urinaires observées chez les volontaires au moment de la réalisation de ces études. D'ailleurs, les expositions actuellement constatées ne sont pas associées à des modifications de la fertilité des volontaires. En revanche, l'exposition professionnelle antérieure, en particulier avant 1995, est associée à un risque augmenté de présenter un plus faible nombre de spermatozoïdes et un plus faible pourcentage de spermatozoïdes morphologiquement normaux. Ces effets testiculaires sont cohérents avec les observations toxicologiques des éthers de glycol reprotoxiques. Les spermatocytes pachytènes de la lignée germinale constituent la cible préférentielle des éthers de glycol. Cela se traduit par un arrêt ou une diminution de la spermatogenèse. Les données expérimentales montrent que lorsque l'exposition cesse, la spermatogenèse reprend progressivement. Ces observations confirment l'absence d'effets néfastes sur les cellules souches, les spermatogonies. Face à des expositions prolongées au cours du temps et tenant compte de la fragilité intrinsèque de la spermatogenèse chez l'homme, il est concevable que le processus de récupération soit particulièrement lent. En absence

d'exposition notoire de nos jours, les effets observés dans ces deux études épidémiologiques pourraient s'expliquer par des séquelles résiduelles d'expositions antérieures.

Fonction ovarienne et altération de la fertilité chez la femme

Les évidences concernant les études sur la fertilité féminine avaient été jugées non concluantes (Inserm, 1999). Toutefois, dans l'industrie des semi-conducteurs aux États-Unis, des anomalies de la durée ou de la régularité des cycles menstruels ainsi qu'une diminution de la fertilité avaient été rapportées chez des femmes travaillant dans les secteurs les plus exposés aux éthers de glycol.

Dans une entreprise de fabrication de semi-conducteurs à Taïwan (Chen et coll., 2002), 720 femmes (sur 842) ont accepté de participer à un entretien. Cent soixante treize d'entre elles ont déclaré avoir eu une grossesse pendant leur emploi entre 1990 et 1997 : 88 appartenaient au secteur de la fabrication (188 grossesses) et 85 étaient hors-fabrication (104 grossesses). Outre une exposition aux éthers de l'éthylène glycol, les femmes travaillant dans le secteur de la fabrication étaient également potentiellement exposées à l'arsenic, au fluorure d'hydrogène, à l'isopropanol, à des composés phosphorés et aux radiofréquences. Le rapport de fécondabilité (RF) (F : probabilité de conception au cours d'un cycle) entre exposées et non-exposées a été ajusté sur l'âge, les horaires et années de travail, la contraception, la gravidité, un score de stress et la fréquence des rapports sexuels. Quatre femmes qui avaient déclaré fumer ou consommer de l'alcool ont été exclues. Le rapport de fécondabilité était légèrement diminué (RF = 0,77 ; IC 95 % [0,45-1,32]) dans le secteur de la photolithographie (dans lequel les éthers de glycol sont les plus utilisés) et chez les femmes considérées exposées aux éthers de glycol (RF = 0,59 ; IC 95 % [0,37-0,94]) en comparaison avec les femmes hors secteur de fabrication. Aucun autre secteur ou produit n'était associé à une fécondabilité réduite.

Dans la même entreprise de l'industrie des semi-conducteurs, une enquête transversale sur les cycles menstruels a été conduite en 1997 chez 606 employées sur les 842 présentes : 473 dans le secteur fabrication ; 133 hors-fabrication (Hsieh et coll., 2005). Cette enquête visait à corroborer les résultats précédents sur le délai nécessaire à concevoir (Chen et coll., 2002). Les paramètres mesurés étaient : la longueur du cycle, la variabilité dans la longueur du cycle, la durée des saignements, l'importance des saignements, l'existence de syndromes prémenstruels. Les seules différences observées portent sur le risque de cycles longs (> 35 jours). Ce risque est augmenté pour les femmes travaillant dans les secteurs de la photolithographie et la diffusion. On observe une augmentation du risque de cycle long chez les femmes exposées aux éthers de glycol et à l'isopropanol (OR = 5,0 ; IC 95 %

[1,7-14]) et chez celles exposées au fluorure d'hydrogène, à l'isopropanol et aux composés phosphorés (OR = 3,5 ; IC 95 % [1,1-11]). En l'absence de mesures quantitatives d'exposition, les auteurs discutent de la difficulté d'attribuer ces observations aux seuls éthers de glycol, puisque l'isopropanol en particulier est associé également à un risque augmenté.

Pour mémoire, il faut citer une étude conduite en Chine chez 32 employées d'une entreprise de fabrication de plaques photoréticulables exposées majoritairement à l'EGEE ($m_g^{10} = 121$ mg/g de créatinine) et 20 sujets non exposés ($m_g = 2,7$ mg/g de créatinine). Des menstruations irrégulières sans autre précision ont été rapportées par 14,2 % des exposées et 25 % des témoins (Wang et coll. 2004).

Les deux études conduites à Taïwan apportent des éléments nouveaux à la littérature concernant les effets des éthers de glycol sur la fertilité féminine. La première étude confirme les observations antérieures dans l'industrie des semi-conducteurs aux États-Unis. En revanche, les observations en faveur d'une association avec des cycles longs sont en contradiction avec l'étude SHS (Gold et coll., 1995) ; cette dernière montrait une augmentation du risque de cycles courts (< 24 jours) lorsque des perturbations des cycles menstruels dans les mêmes secteurs de travail étaient constatées.

Effets des éthers de glycol sur le développement

Les effets des éthers de glycol sur le développement concernent le risque d'avortements spontanés et le risque de malformations, en particulier, le risque d'anomalies du tube neural et des fentes orales. Les études correspondantes sont présentées dans le tableau 5.II.

Risque d'avortements spontanés

L'expertise collective de 1999 avait conclu que les deux études américaines conduites dans l'industrie des semi-conducteurs (la *SHS study* et l'étude IBM) étaient concordantes pour montrer un effet dose-dépendant de l'exposition aux éthers de l'éthylène glycol sur le risque d'avortements spontanés.

Le *Health and safety executive* britannique a conduit une enquête dans l'industrie des semi-conducteurs sur le modèle de celles qui ont été réalisées aux États-Unis dans les années 1990 (Elliott et coll., 1999). Deux mille deux cent sept femmes ayant travaillé dans l'une des huit entreprises participantes entre 1987 et 1993 ont été interrogées sur leurs grossesses, y compris sur les

10. Moyenne géométrique

Tableau 5.II : Études épidémiologiques sur le développement (résultats des études publiées depuis 1999)

Référence Pays Type d'étude	Population (secteur, effectifs)	Exposition prédominante (Période d'exposition) Mesure	Résultats
Elliott et coll., 1999 Grande-Bretagne Cas-témoins nichée dans une cohorte	Semi-conducteurs 36 cas (1 avortement spontané) et 80 témoins (1 naissance) parmi 326 femmes éligibles (antiécédents d'avortements spontanés exclus)	Évaluation qualitative par un hygiéniste industriel (période 1987-1993) Exposition aux éthers de l'éthylène glycol pour 2 cas et 10 témoins (12,5 %)	$OR_{Fab/Niab} = 0,64$; IC 95 % [0,27-1,51] $OR_{EGE} = 0,46$; IC 95 % [0,10-2,11] Appariement cas-témoins sur compagnie et âge à la conception Ajustement sur tabac, alcool, charge de travail, stress
Lorente et coll., 2000 Europe Cas-témoins	100 cas (fentes orales) 751 témoins (même population que Cordier et coll., 1997)	Interview de la mère, puis évaluation des expositions par hygiénistes industriels (période 1989-1992)	$OR = 1,7$; IC 95 % [0,9-3,3] pour les fentes labio-palatines Ajustement sur âge maternel, centre, catégorie socio-professionnelle, résidence rurale, origine géographique, autres expositions professionnelles
Cordier et coll., 2001 République Slovaque Cas-témoins	196 cas (malformations) 196 témoins (naissances vivantes)	Interview de la mère, puis évaluation des expositions par hygiénistes industriels (période 1995-1996) 15 femmes potentiellement exposées (essentiellement EGEE et EGBE)	$OR = 2,3$; IC 95 % [0,7-7,0] (toutes malformations) Excès non significatif pour tous les sous-groupes sauf digestifs et musculo-squelettiques Ajustement sur âge maternel, résidence rurale, catégorie socio-professionnelle
Brender et coll., 2002 États-Unis/Mexique Cas-témoins	184 cas (anomalies de fermeture du tube neural) 225 témoins (naissances vivantes)	Interview, puis évaluation des expositions par l'investigateur principal (période 1995-2000) 7 mères de cas exposées aux EG 24 pères de cas et 38 témoins (18,5 %) Expositions surtout dans métiers de santé et de nettoyage	$OR = \infty$; IC 95 % [1,8- ∞] $OR = 0,7$; IC 95 % [0,4-1,3] Ajustement sur âge, niveau d'études, indice de masse corporelle, ou revenus (père)
Chevrier et coll., 2004 France Cas-témoins	240 cas (fentes orales) 236 témoins (enfants même âge, sexe et origine)	Interview de la mère, puis évaluation des expositions par hygiénistes indus- triels (période 1998-2001)	$OR = 1,65$; IC 95 % [1,1-2,6] pour les solvants oxygénés avec une indication de relation dose-réponse Exposition aux éthers de glycol indissociable de l'exposition aux alcools aliphatiques, esters, aldéhydes ou cétones Ajustement sur âge, centre et origine

EG : éthers de glycol ; EGE : éthers de l'éthylène glycol ; Fab/Niab : secteur fabrication/secteur hors fabrication.

avortements spontanés. À partir de cette cohorte, une étude cas-témoins a été construite : les cas étaient les femmes ayant eu un premier avortement spontané au cours de la période (les femmes ayant des antécédents d'avortements spontanés ont été exclues) (N = 36) ; au moins deux témoins par cas étaient choisis parmi les femmes ayant eu une naissance vivante, sans antécédent d'avortement spontané, appariées sur le site et l'âge de la mère à la conception (± 3 mois) (N = 80). Une évaluation qualitative des expositions a été conduite par un hygiéniste industriel à l'aveugle du statut cas-témoin. Deux cas et 10 témoins ont été déclarés exposés aux éthers de glycol. Aucune différence significative n'a été observée entre cas et témoins, ni en ce qui concerne le secteur de travail ($OR_{\text{Fab/Nfab}}^{11} = 0,64$; IC 95 % [0,27-1,51]), ni en ce qui concerne l'exposition aux éthers de glycol ($OR = 0,46$; IC 95 % [0,10-2,11]).

Très peu de détails sont donnés sur les éthers de glycol utilisés et les niveaux mesurés sur les lieux de travail. La restriction de la population aux femmes n'ayant eu aucun antécédent d'avortement spontané, et l'analyse cas-témoins dans la cohorte ont probablement considérablement réduit la puissance de cette étude. Elle n'est pas en contradiction avec des études américaines antérieures.

Risque de malformations congénitales

Un syndrome malformatif comprenant des signes de dysmorphie faciale et de retard mental a été décrit au Mexique chez les enfants de femmes fortement exposées à un mélange d'EGME (85 %) et d'éthylène glycol pendant la grossesse (Saavedra et coll., 1997). Deux études cas-témoins conduites, l'une en Europe et l'autre aux États-Unis, avaient donné des résultats contradictoires (Inserm, 1999). En effet, l'étude californienne n'avait pas montré de lien entre l'exposition, professionnelle ou domestique, aux éthers de glycol et le risque d'anomalies de fermeture du tube neural (Shaw et coll., 1999). En revanche, l'étude conduite en Europe de l'Ouest (Cordier et coll., 1997) avait mis en évidence une augmentation de risque – anomalies du tube neural, fentes orales et malformations multiples – associée à l'exposition professionnelle aux éthers de glycol durant le premier trimestre de la grossesse. Les tâches entraînant une exposition étaient principalement les tâches de nettoyage, de coiffure et le métier d'aide soignante. Les éthers de glycol impliqués étaient principalement l'EGBE et le DEGBE, et dans une moindre mesure l'EGEE, le DEGEE, l'EGnPE et le DEGME (Inserm, 1999) et le PGME.

11. Fab/Nfab : secteur fabrication/secteur hors fabrication.

Études cas-témoins

L'analyse des résultats de cette première enquête cas-témoins a été approfondie plus particulièrement pour un sous-groupe de malformations, celui des fentes orales (Lorente et coll., 2000). Dans cette analyse, l'exposition professionnelle aux éthers de glycol a été étudiée simultanément aux autres expositions professionnelles identifiées. Elle permet de préciser la relation trouvée dans l'analyse précédente : une association plus spécifiquement avec les fentes labiopalatines, non statistiquement significative après prise en compte des autres expositions à risque dans cette étude (aldéhydes aliphatiques) (OR = 1,7 ; IC 95 % [0,9-3,3]).

Faisant suite à l'étude conduite dans 4 pays d'Europe de l'Ouest, une étude suivant un protocole semblable a été mise en place en Slovaquie entre 1995 et 1996 (Cordier et coll., 2001). Cent quatre vingt seize cas de malformations congénitales majeures (65 % des cas éligibles) ont été identifiés dans l'une des 26 maternités participantes et appariés à un témoin par cas né sans malformation dans la même maternité. Les caractéristiques médicales et sociodémographiques de la famille étaient déterminées par un questionnaire à la mère. Les évaluations des expositions professionnelles aux éthers de glycol en particulier ont été faites sous la responsabilité du même chercheur que dans la première étude en contact étroit avec une équipe locale. Quinze femmes (10 cas et 5 témoins) ont été considérées exposées aux éthers de glycol (principalement l'EGEE et l'EGBE). Le risque global de malformations est augmenté de façon non statistiquement significative (OR = 2,3 ; IC 95 % [0,7-7]) et dans chaque sous-groupe de malformations sauf les malformations musculosquelettiques et digestives. La restriction au groupe de femmes les plus exposées augmente légèrement les risques.

La parution de ces deux études (Cordier et coll., 1997 ; Cordier et coll., 2001) a donné lieu à une publication de Maldonado et coll. (2003). Cette publication met en cause la méthodologie de ces deux études et de celle de Shaw et coll. (1999) qui n'avait pas mis en évidence d'association. La première critique est fondée sur des études de sensibilité simulant différents scénarios d'erreurs ayant pu affecter l'identification des cas, des témoins, la mesure de l'exposition et la prise en compte des facteurs de confusion. Ces simulations tendent à diminuer les excès de risque observés dans les études de Cordier et coll. (1997 et 2001) et à augmenter les estimations de risque obtenues dans l'étude de Shaw et coll. (1999) pour conclure à l'absence d'évidence dans un sens ou dans l'autre. Il faut signaler que toute étude épidémiologique peut être soumise à ce type d'analyse et ses résultats remis en cause. Dans ce cas précis, Maldonado et coll. (2003) ont fait l'hypothèse que les erreurs affectant les deux études « positives » et l'étude « négative » étaient inverses, ce qui est peu vraisemblable pour à la fois une même exposition (les éthers de glycol), un même type de pathologie (malformations congénitales) et un type d'étude identique (cas-témoins). L'autre critique met en cause la plausibilité biologique de l'association trouvée car la térato-

généricité des éthers de glycol le plus souvent présents dans les métiers des femmes des études européennes n'a pas été démontrée chez l'animal. Cette affirmation est exacte pour le PGME et l'EGBE mais les auteurs négligent la présence de l'EGEE et du DEGME, dont le caractère tératogène est indiscutable, parmi les éthers de glycol présents dans les deux études positives.

Une étude cas-témoins sur les anomalies du tube neural (ATN) a été menée dans une population de femmes américaines d'origine mexicaine vivant dans une ville frontalière (Brender et coll., 2002). Les taux d'ATN sont particulièrement élevés dans cette population et ne semblent pas entièrement expliqués par les facteurs nutritionnels. Cent quatre vingt quatre cas d'ATN ont été comparés à 225 enfants normaux tirés au sort parmi les enfants nés dans la même région au cours de la même période. Les informations médicales, personnelles et les expositions professionnelles de la mère et du père ont été obtenues après un entretien avec la mère. Différents secteurs (santé, nettoyage...) ou expositions à risque (solvants, éthers de glycol...) ont été définis a priori et les expositions maternelle et paternelle ont été définies par l'un des investigateurs sans connaissance du statut cas ou témoin. Sept mères de cas ont été considérées exposées aux éthers de glycol et aucune mère de témoin (OR = ∞ ; IC 95 % [1,8- ∞]). Les seuls secteurs ou autres expositions maternelles associés à un risque accru sont « avoir occupé un emploi de nettoyage » (OR = 9,5 ; IC 95 % [1,1-82,2]) et « avoir travaillé dans le secteur de la santé » (OR = 3,0 ; IC 95 % [1,0-9,0]). Il n'y a pas de lien entre le risque d'ATN et l'exposition paternelle aux éthers de glycol (OR = 0,7 ; IC 95 % [0,4-1,3]), ni avec aucune autre exposition paternelle ou secteur professionnel testés.

Les résultats préliminaires d'une étude cas-témoins sur les fentes orales conduite en France à partir de 7 services de chirurgie maxillo-faciale ont été présentés en 2004 (Chevrier et coll., 2004). Deux cent quarante enfants atteints de fente orale ont été comparés à 236 témoins d'autres services, appariés sur le sexe, l'âge et l'origine ethnique. Les expositions professionnelles aux solvants pendant la grossesse ont été étudiées ; 17 % des mères de témoins ont été déclarées exposées aux éthers de glycol. Cette exposition était le plus souvent indissociable d'une exposition simultanée à d'autres types de solvants dits oxygénés comme les alcools aliphatiques ou les esters, les aldéhydes ou les cétones. Globalement, le risque associé aux éthers de glycol était de OR = 1,78 (IC 95 % [1,1-3,0]) avec une indication de relation dose-réponse pour chacun des sous-groupes de fentes orales. À partir de ces mêmes données, les auteurs ont mis en évidence un rôle protecteur d'un génotype de l'alcool déshydrogénase 1C (ADH1C, polymorphisme Ile349Val) sur le risque de fente orale (Chevrier et coll., 2005). Ce génotype est responsable d'une activité ADH déficiente et dans ce cas, la transformation en métabolites toxiques est donc diminuée.

L'interprétation des études cas-témoins en population générale est rendue difficile par la présence simultanée de nombreux autres solvants dans la

composition des produits utilisés dans les métiers exposés aux éthers de glycol. La variabilité des compositions et les obstacles à l'obtention de ces informations rendent de plus l'identification des éthers de glycol présents dans ces études très hypothétique. Enfin, à part l'étude de Shaw et coll. (1999), les éthers de glycol, évalués indépendamment des co-expositions (sans doute variables d'une étude à l'autre), sont associés à un excès de risque de certaines malformations : anomalies du tube neural (Cordier et coll., 1997 et 2001 ; Brender et coll., 2002) ou fentes orales (Lorente et coll., 2000 ; Cordier et coll., 2001 ; Chevrier et coll., 2004).

Autres études

Dans la population de femmes mexicaines fortement exposées à l'EGME (Saavedra et coll., 1997) et déjà citée dans l'expertise précédente, une équipe de chercheurs texans (El Zein et coll., 2002) a recherché les anomalies cliniques et cytogénétiques chez 41 enfants de 28 femmes employées entre 1970 et 1977 dans une compagnie fabriquant des transistors. Parmi les 41 enfants (âgés de 10 à 28 ans au moment de l'étude), 6 avaient été exposés *in utero* et 35 sont nés alors que leur mère n'avait pas été exposée pendant la grossesse. Les 6 enfants exposés *in utero* présentaient divers degrés de retard mental et de dysmorphie. Vingt neuf des 35 non exposés *in utero* ne montraient aucune anomalie ; les autres présentaient des signes légers et différents des exposés (doigts palmés, anomalies génitales), sauf 2 qui montraient des signes similaires aux exposés bien que beaucoup moins prononcés. Pour les analyses cytogénétiques (lymphocytes), chaque enfant exposé *in utero* a été apparié à 2 enfants non exposés *in utero*, de même sexe et de même âge (± 5 ans) ; cependant, les auteurs n'indiquent pas si ces enfants étaient ou non porteurs de malformations. Deux types d'analyse ont été conduites : une analyse conventionnelle (cytogénétique) et une analyse moléculaire (FISH). Les deux types d'analyse mettent en évidence une fréquence plus élevée d'aberrations chromosomiques et de cassures chez les exposés *in utero* comparés aux non-exposés. Tous les sujets exposés présentaient de façon exclusive une fréquence importante d'anomalies polyploïdes. La persistance de ces anomalies cytogénétiques chez les sujets exposés *in utero* pourrait être expliquée par un retard de la division cellulaire ou une atteinte des mécanismes de réparation. Ces observations suggèrent un mécanisme cytogénétique pour les anomalies observées.

Il n'est pas invraisemblable que les expositions fortes à l'EGME telles qu'elles étaient présentes dans l'entreprise mexicaine décrite dans les publications de Saavedra et coll. (1997) et El Zein et coll. (2002) aient provoqué des atteintes chez les enfants exposés *in utero*. Les syndromes malformatifs décrits sont assez proches du syndrome d'alcoolisation fœtal.

Différents mécanismes peuvent être évoqués pour expliquer le risque de malformation dans ces études. La mise en évidence de l'association d'un polymorphisme de l'ADH dans le risque de fente orale rend possible

l'implication de substances métabolisées par l'ADH dans les phénomènes malformatifs (éthanol, éthers de l'éthylène glycol, 1PG2ME). La responsabilité de l'acétaldéhyde est probable pour les effets de l'éthanol ; pour les éthers de glycol, la responsabilité des aldéhydes est seulement plausible. Un mécanisme génotoxique ne peut être écarté, même s'il n'y a pas de données expérimentales *in vivo* en sa faveur, mais d'autres mécanismes cytotoxiques sont possibles. Même si l'EGME n'est pas mutagène, on a montré que les métabolites aldéhydiques de la série éthylénique sont mutagènes (MALD) ou clastogènes (MALD, EALD, BALD).

En conclusion, le nombre de publications récentes provenant des pays asiatiques démontre la persistance de l'exposition à des éthers de glycol comme l'EGME dans ces pays, alors que des données d'exposition récentes en France indiquent que l'exposition y a considérablement diminué.

Les études conduites en France sur la fertilité masculine mettent en évidence un effet lié à des expositions anciennes aux éthers de glycol mais aucun lien avec l'exposition récente, suggérant la persistance d'un effet toxique résiduel des éthers de glycol les plus toxiques utilisés jusque dans les années 1995. Les nouvelles études portant sur les atteintes de la fertilité féminine n'apportent pas d'informations déterminantes permettant de conclure à l'existence d'un risque accru. La publication britannique rapportant une absence d'augmentation du risque d'avortements spontanés dans l'industrie des semi-conducteurs ne remet pas en cause les observations faites précédemment aux États-Unis d'une association dose-dépendante avec l'exposition aux éthers de glycol présents, en raison d'un certain nombre de faiblesses méthodologiques. Trois nouvelles études sur le risque de malformations congénitales, essentiellement des études cas-témoins en population générale, concluent à un accroissement de risque de fentes orales ou d'anomalies du tube neural en lien avec l'exposition aux éthers de glycol. L'existence d'une association entre ces malformations congénitales et certains éthers de glycol tératogènes chez l'animal ne peut être exclue.

BIBLIOGRAPHIE

BRENDER J, SUAREZ L, HENDRICKS K, BAETZ RA, LARSEN R. Parental occupation and neural tube defect-affected pregnancies among mexican americans. *J Occup Environ Med* 2002, **77** : 650-656

CHEN PC, HSIEH GY, WANG JD, CHENG TJ. Prolonged time to pregnancy in female workers exposed to ethylene glycol ethers in semiconductor manufacturing. *Epidemiology* 2002, **13** : 191-196

CHEVRIER C, BAHUAU M, FRANCANNET C, ROBERT-GNANSIA E, PERRET C, CORDIER S. Oral clefts, maternal exposure to solvents and CYP2E1 polymorphism. *Epidemiology* 2004, **15** : S184-185

CHEVRIER C, PERRET C, BAHUAU M, NELVA A, HERMAN C, et coll. Interaction between the ADH1C polymorphism and maternal alcohol intake in the risk of non-syndromic oral clefts : an evaluation of the contribution of child and maternal genotypes. *Birth Defects Research (Part A)* 2005, **73** : 114-122

CORDIER S, BERGERET A, GOUJARD J, HA MC, AYME S, BIANCHI F, et coll. Congenital malformations and maternal exposure to glycol ethers. *Epidemiology* 1997, **8** : 355-363

CORDIER S, SZABOVA E, FEVOTTE J, BERGERET A, PLACKOCA S, MANDEREAU L. Congenital malformations and maternal exposures to glycol ethers in the Slovak Republic. *Epidemiology* 2001, **12** : 592-593

ELLIOTT RC, JONES JR, MCELVENNY DM, PENNINGTON MJ, NORTHAGE C, et coll. Spontaneous abortion in the British semiconductor industry : an HSE investigation. *Am J Ind Med* 1999, **36** : 557-572

EL ZEIN RA, ABDEL-RAHMAN SZ, MORRIS DL, LEGATOR MS. Exposure to ethylene glycol monomethyl ether: clinical and cytogenetic findings. *Arch Environ Health* 2002, **57** : 371-376

GOLD EB, ESKENAZI B, HAMMOND SK, LASLEY BL, SAMUELS SJ, et coll. Prospectively assessed menstrual cycle characteristics in female wafer-fabrication and nonfabrication semiconductor employees. *Am J Ind Med* 1995, **28** : 799-815

HSIEH GY, WANG JD, CHENG TJ, CHEN PC. Prolonged menstrual cycles in female workers exposed to ethylene glycol ethers in the semiconductor industry. *Occup Environ Med* 2005, **8** : 510-516

INSERM. Ethers de Glycol : Quels risques pour la santé ? Collection Expertise collective Inserm, Éditions Inserm, Paris, 1999

LORENTE C, CORDIER S, BERGERET A, DE WALLE HEK, GOUJARD J, et coll. Maternal occupational risk factors for oral clefts. *Scand J Work Environ Health* 2000, **26** : 137-145

MALDONADO G, DELZELL E, TYL RW, SEVER LE. Occupational exposure to glycol ethers and human congenital malformations. *Int Arch Occup Environ Health* 2003, **76** : 405-423

MULTIGNER L, BEN BRIK E, BESSIS JM, AUGER J, ARNAUD I, et coll. Impact des expositions aux éthers de glycol sur la fertilité masculine : agents de la Ville de Paris et agents de la RATP. Journées scientifiques de l'INVS, Paris, 2004

SAAVEDRA D, ARTEAGA M, TENA M. Industrial contamination with glycol ethers resulting in teratogenic damage. *Ann N Y Acad Sci* 1997, **837** : 126-137

SHAW GM, VELIE EM, KATZ EA, MORLAND KB, SCHAFFER DM, NELSON V. Maternal occupational and hobby chemical exposures as risk factors for neural tube defects. *Epidemiology* 1999, **10** : 124-129

SHIH TS, HSIEH AT, LIAO GD, CHEN YH, LIOU SH. Haematological and spermatotoxic effects of ethylene glycol monomethyl ether in copper clad laminate factories. *Occup Environ Med* 2000, **57** : 348-352

WANG RS, SUDA M, GAO X, WANG B, NAKAJIMA T, HONMA T. Health effects of exposure to ethylene glycol monoethyl ether in female workers. *Ind Health* 2004, **42** : 447-451

Synthèse

La réactualisation des données toxicologiques et épidémiologiques de l'expertise collective de 1999 sur les éthers de glycol permet d'une part de confirmer les effets (hématotoxicité, reprotoxicité...) de substances déjà étudiées et d'en révéler de nouveaux ; d'autre part, cette réactualisation apporte des éléments sur des molécules pour lesquelles aucune donnée n'était publiée avant 1999.

Toxicocinétique

Du fait de leur caractère amphiphile, les éthers de glycol traversent facilement les membranes et se répartissent dans les compartiments aqueux et lipidiques. Absorbés de manière importante quelle que soit la voie de pénétration (orale, cutanée, pulmonaire), ils se distribuent dans la plupart des tissus biologiques, y compris dans les tissus fœtaux. Cependant, les données précises de distribution relatives à chaque éther de glycol restent éparses. Des études de distribution de l'EGBE chez la souris ont permis de quantifier l'EGBE et ses métabolites dans différents compartiments gastriques. Des données issues d'études pharmacologiques avec le DEGEE chez le rat confortent le fait que les éthers de glycol se distribuent dans tous les tissus et notamment dans le foie, les reins et la moelle osseuse. Après absorption, les systèmes enzymatiques transforment les éthers de glycol en composés hydrosolubles plus facilement éliminés ou en métabolites réactifs, responsables de manifestations toxiques. Néanmoins, concernant les dérivés di- ou triéthyléniques, la proportion des métabolites intermédiaires et ultimes formés reste mal connue. Des études de toxicocinétique menées avec le DEGEE chez le rat ont par exemple montré que le métabolite majoritaire est l'acide éthoxyéthoxyacétique (EEAA) et non le métabolite ultime acide éthoxyacétique (EAA). Associé à des études de toxicité des métabolites eux-mêmes, ce type de données permet d'une part de mieux évaluer le potentiel toxique du dérivé di- ou triéthylénique et de déterminer d'autre part le métabolite à doser aux cours des études d'exposition humaine.

Hématotoxicité

Concernant les effets hématotoxiques des éthers de glycol, les données publiées depuis 1999 ne modifient pas fondamentalement notre connaissance de ces effets et elles apportent quelques informations complémentaires

utiles. Ces données confirment le caractère hémolysant de l'EGBE chez le rat et précisent l'histoire naturelle des accidents hémolytiques : ils sont précédés par une diminution de la plasticité des hématies, leur déformation (sphérocytose, stomatocytose) et une augmentation du volume globulaire. Quand l'hémolyse est importante, elle se complique d'une coagulation intravasculaire responsable de thromboses et d'infarctus disséminés, de précipitation d'hémoglobine dans les tubules rénaux entraînant une nécrose tubulaire et de l'apparition de foyers d'hématopoïèse extra-médullaires. L'hémolyse induite par l'EGBE chez le rat n'a, en fait, aucun caractère spécifique et des phénomènes exactement semblables sont observés au cours de toutes les maladies hémolysantes, dont elle constitue un bon modèle animal. L'utilisation de ce modèle a déjà permis une meilleure compréhension des effets procoagulants des accidents hémolytiques. Par ailleurs, les publications récentes confirment que c'est le principal métabolite de l'EGBE, l'acide butoxyacétique (BAA), qui est responsable de l'hémolyse. Les hématies humaines sont très résistantes aux effets hémolysants du BAA. Chez le rat, les femelles sont plus sensibles que les mâles aux effets de l'EGBE, mais cette particularité ne traduit pas une plus grande fragilité de leurs hématies : elle résulte de différences toxicocinétiques entre les deux sexes. Le mécanisme des effets de l'EGBE sur les hématies n'est pas encore parfaitement élucidé, mais le *primum movens* semble une entrée accrue de sodium et d'eau.

Des données récemment publiées confirment aussi la capacité de l'EGiPE, de l'EGPhE et du DEGBE d'induire une hémolyse. Le pouvoir hémolysant de ces trois substances est toutefois moins marqué que celui de l'EGBE, et celui de l'EGiPE est beaucoup plus important que celui de l'EGPhE ou du DEGBE. Une étude *in vitro* a montré que l'hémolyse induite par ce dernier était probablement due à son principal métabolite, l'acide butoxyéthoxyacétique (BEAA). Les hématies humaines sont très peu sensibles à l'effet hémolysant du BEAA.

De nouvelles études épidémiologiques ont confirmé l'effet hypoplasiant médullaire de l'EGME, l'EGEE et l'EGEEA, en montrant un excès de risque de cytopénies périphériques corrélé à l'exposition chez les travailleurs de divers secteurs d'activité. Une étude expérimentale établit l'hématotoxicité du TEGDME chez le rat : chez cette espèce, l'administration répétée de fortes doses de l'éther de glycol a induit des diminutions des comptes des plaquettes et des leucocytes, ainsi qu'une atteinte thymique. Une autre étude récente conduite chez le rat confirme l'effet hypoplasiant du DEGDME au niveau de la moelle osseuse et établit sa toxicité pour les organes lymphoïdes.

Deux études expérimentales ont confirmé que la toxicité de l'EGME pour la moelle osseuse et pour les organes lymphoïdes était médiée par ses deux principaux métabolites, l'acide méthoxyacétique (MAA) et surtout, le méthoxyacétaldéhyde (MALD) ; elles ont apporté des arguments en faveur d'un mécanisme apoptotique de l'atteinte des cellules souches.

Mutagenicité, génotoxicité et cancérogénicité expérimentales

L'étude de la mutagenicité des éthers de l'éthylène glycol et du propylène glycol met en évidence un profil équivalent des deux séries de solvants, qui apparaissent dénués d'activité mutagène sur bactéries et cellules de mammi-fères.

Cependant, il est difficile de certifier que les éthers de la série propylénique sont moins dangereux en terme de génotoxicité que les éthers de la série éthylénique. Les effets de type aneuploïdie, inhibition de la coopération métabolique et échanges de chromatides sœurs, positifs avec l'EGME, l'EGEE et l'EGBE n'ont pas été recherchés à quelques exceptions près. Lorsque les essais ont été réalisés, ils se sont révélés positifs : le PGME et le DPGnBE inhibent la coopération métabolique, et le PGME augmente aussi les échanges entre chromatides sœurs. Par ailleurs, deux éthers du propylène glycol, le DPGtBE et le 2PG1PhE, sont positifs au test du micronoyau *in vivo*, contrairement aux autres éthers de glycol.

La cancérogénicité de l'EGBE, du PGtBE et du PGME a été mise en évidence chez l'animal. Toutefois, les hypothèses mécanistiques avancées pour expliquer les effets néoplasiques chez l'animal n'ont pas été jugées transposables à l'homme. L'EGBE et le PGtBE ont été classés en catégorie 3 par le CIRC¹². L'Union européenne a considéré qu'il n'y avait pas de preuves de la cancérogénicité de l'EGBE pour l'homme et n'a pas classé cette substance dans l'une de ses trois catégories d'agents cancérogènes.

Effets sur la fonction de reproduction et le développement chez l'animal

Depuis l'expertise collective de 1999, il a été acquis une meilleure compréhension des mécanismes d'apoptose induits par les éthers de glycol reprotoxiques au niveau testiculaire ainsi que lors de la gestation et du développement. Des incertitudes pesant sur la toxicité testiculaire du DEGBE et du DEGEE ont été levées grâce à de nouveaux essais toxicologiques chez l'animal montrant leur absence d'effets. Au contraire, d'autres évaluations ont confirmé la toxicité testiculaire du DEGDME et du TEGME.

12. Catégorie 3 du CIRC : groupe des agents inclassables (« ne peut pas être classé comme cancérogène pour l'homme sur la base de preuves insuffisantes chez l'homme et insuffisantes ou limitées chez l'animal »)

De nouvelles études rendent compte d'une absence d'effets délétères du DEGBE, du DEGDME et du TEGME sur les gonades femelles. Quelques éthers de glycol ont fait l'objet d'investigations concernant leur impact sur le développement. Pour le DEGEE, il a été montré une absence d'effets toxiques à l'exception de l'apparition de retards d'ossification à des doses très élevées. De nouveaux travaux relatifs au DEGDME ont en revanche validé les résultats antérieurs montrant une toxicité sur le développement. Concernant les éthers de glycol propyléniques (série P), les nouvelles recherches se sont concentrées sur l'isomère minoritaire bêta du PGME (1PG2ME). Ces recherches ont confirmé sa toxicité pour le développement et montré, pour la première fois, une toxicité testiculaire. Comparativement aux éthers de glycol éthyléniques, les dérivés de la série propylénique, en particulier les isomères pouvant se métaboliser en alkoxyacides, ont été peu étudiés du point de vue de la toxicité reproductive ; ils mériteraient de nouvelles investigations.

Études épidémiologiques des effets sur la reproduction et le développement

Concernant les effets de l'exposition professionnelle aux éthers de glycol sur la fertilité masculine, ils semblent se confirmer et paraissent limités aux types d'éthers et aux niveaux d'exposition qui prévalaient en France avant 1995. Des études en Asie, région du monde où sont encore utilisés les éthers de glycol les plus toxiques, suggèrent un impact sur la fonction ovarienne, mais un certain nombre de contradictions dans les résultats restent à élucider avant qu'une conclusion définitive sur l'existence de ce risque puisse être établie. Plusieurs études épidémiologiques sur les malformations congénitales telles que les anomalies du tube neural et les fentes orales, ainsi que des rapports de cas faisant suite à des situations d'expositions maternelles très élevées, associent une exposition maternelle (estimée) à des éthers de glycol à un risque accru de malformations. L'exposition simultanée à de multiples solvants rend la causalité difficile à établir. Cependant, l'existence d'un risque de malformations augmenté lors de l'exposition à certains éthers de glycol tératogènes chez l'animal conduit à ne pas exclure cette hypothèse dans l'espèce humaine. Des études épidémiologiques prospectives sont en cours ; elles devraient mettre en relation une évaluation objective de l'exposition aux éthers de glycol en début de grossesse par dosage des métabolites urinaires avec la qualité du développement intra-utérin (fausses couches, petits poids de naissance, malformations congénitales).

Annexes

ANNEXE 1

Liste des noms et abréviations des éthers de glycol et de leurs métabolites

Éthers de glycol et métabolites	N°CAS	Noms
1PG2ME	1589-47-5	1-Propylène glycol 2-méthyl éther
1PG2MEA	70657-70-4	1-Propylène glycol 2-méthyl éther 1-acétate
1PG2PhE	4169-04-4	1-Propylène glycol 2-phényl éther
1PG3ME	1589-49-7	1-Propylène glycol 3-méthyl éther
2-MPA (métabolite)	4324-37-2	Acide méthoxypropionique
2PG1BE	5131-66-8 29387-86-8 (mélange isomères)	2-Propylène glycol 1-n-butyl éther
2PG1EE	1569-02-4	2-Propylène glycol 1-éthyl éther
2PG1EEA	54839-24-6	2-Propylène glycol 1-éthyl éther 2-acétate
2PG1ME	107-98-2	2-Propylène glycol 1-méthyl éther
2PG1MEA	108-65-6	2-Propylène glycol 1-méthyl éther acétate
2PG1nPE	1569-01-03	Propylène glycol n-propyl éther
PGPE		
2PG1PhE	770-35-4	2-Propylène glycol 1-phényl éther
BAA (métabolite)	2516-93-0	Acide butoxyacétique
BALD (métabolite)	-	Butoxyaldéhyde
BEAA (métabolite)	-	Acide butoxyéthoxyacétique
DEGBE	112-34-5	Diéthylène glycol butyl éther
DEGBEA	124-17-4	Diéthylène glycol butyl éther acétate
DEGDÉE	112-36-7	Diéthylène glycol diéthyl éther
DEGDME	111-96-6	Diéthylène glycol diméthyl éther
DEGEE	111-90-0	Diéthylène glycol éthyl éther
DEGEEA	112-15-2	Diéthylène glycol éthyl éther acétate
DEGHE	112-59-4	Diéthylène glycol hexyl éther
DEGME	111-77-3	Diéthylène glycol méthyl éther
DEGnPE	6881-94-3	Diéthylène glycol n-propyl éther
DPGDME	111109-77-4	Dipropylène glycol diméthyl éther
DPGEE	15764-24-6	Dipropylène glycol éthyl éther
DPGME	34590-94-8	Dipropylène glycol méthyl éther
DPGMEA	88917-22-0	Dipropylène glycol méthyl éther acétate
DPGnBE	29911-28-2	Dipropylène glycol n-butyl éther
DPGnPE	29911-27-1	Dipropylène glycol n-propyl éther

Éthers de glycol

Éthers de glycol et métabolites	N°CAS	Noms
DPGiBE	132739-31-2	Dipropylène glycol mono tert-butyl éther
EAA (métabolite)	627-03-2	Acide éthoxyacétique
EEAA (métabolite)	7743-94-4	Acide éthoxyéthoxyacétique
EGBE	111-76-2	Ethylène glycol n-butyl éther
EGBEA	112-07-2	Ethylène glycol n-butyl éther acétate
EGDBE	112-48-1	Ethylène glycol butyl éther
EGDEE	629-14-1	Ethylène glycol diéthyl éther
EGDME	110-71-4	Ethylène glycol diméthyl éther
EGEE	110-80-5	Ethylène glycol éthyl éther
EGEEA	111-15-9	Ethylène glycol éthyl éther acétate
EGHE	112-25-4	Ethylène glycol hexyl éther
EGiPE	109-59-1	Ethylène glycol isopropyl éther
EGME	109-86-4	Ethylène glycol méthyl éther
EGMEA	110-49-6	Ethylène glycol méthyl éther acétate
EGnPE	2807-30-9	Ethylène glycol n-propyl éther
EGnPEA	20706-25-6	Ethylène glycol n-propyl éther acétate
EGPhE	122-99-6	Ethylène glycol phényl éther
EGtertBE	7580-85-0	Ethylène glycol tert-butyl éther
MAA (métabolite)	625-45-6	Acide méthoxyacétique
MEAA (métabolite)	16024-56-9	Acide méthoxyéthoxyacétique
PAA (métabolite)	54497-00-6	Acide propoxyacétique
PGDEE	10221-57-5	Propylène glycol diéthyl éther
PGDME	7778-85-0	Propylène glycol diméthyl éther
PGPhE	41593-38-8 (mélange isomères)	Propylène glycol phényl éther
PGtBE	57018-52-7	Propylène glycol t-butyl éther
2PG1tBE 1PG2tBE		
PhAA (métabolite)	122-59-8	Acide phénoxyacétique
TEGBE	143-22-6	Triéthylène glycol n-butyl éther
TEGDME	112-49-2	Triéthylène glycol diméthyl éther
TEGEE	112-50-5	Triéthylène glycol éthyl éther
TEGME	112-35-6	Triéthylène glycol méthyl éther
TetraEGBE	1559-34-8	Tetraéthylène glycol butyl éther
TetraEGME	23783-42-8	Tetraéthylène glycol méthyl éther
TPGBE	55934-93-5	Tripropylène glycol mono n-butyl éther
TPGME	25498-49-1 (mélange isomères)	Tripropylène glycol méthyl éther
TPGnPE	96077-04-2	Dowanol® TPnP glycol éther

ANNEXE 2

Contrôle des substances chimiques nouvelles

Une substance chimique nouvelle est une substance mise sur le marché communautaire depuis le 18 septembre 1981 et répertoriée dans la liste européenne des substances chimiques notifiées ELINCS (*European List of Notified Chemical Substances*). Au sens de la réglementation, une substance chimique nouvelle est une substance ne figurant pas dans l'EINECS¹³ (*European Inventory of Existing Commercial chemical Substances*). En effet, les substances mises sur le marché communautaire avant le 18 septembre 1981 sont regroupées dans l'inventaire EINECS. On parle alors communément de substances anciennes ou de « substances existantes ».

Déclaration des substances nouvelles préalablement à leur mise sur le marché communautaire

Dès les années 1970, une réglementation sur le contrôle des substances nouvelles a été mise en place en France. Au niveau européen, une directive communautaire (79/831/CEE) applicable en 1981 a rendu ce contrôle obligatoire. Depuis le 1^{er} novembre 1993, la Directive 92/32/CEE du 30 avril 1992 portant la 7^e modification de la Directive 67/548/CEE est applicable, elle a été transposée en droit français et figure notamment dans le code du travail¹⁴.

Depuis 1979, l'Institut national de recherche et de sécurité (INRS) est chargé de cette activité par le Ministère chargé du Travail et représente l'autorité compétente française pour les effets sur la santé humaine.

Toute substance chimique nouvelle est soumise à déclaration avant sa mise sur le marché communautaire en tant que telle et/ou au sein d'une prépara-

13. L'inventaire EINECS a été publié au JOCE n°146A du 15 juin 1990.

14. Textes réglementaires transposant la directive dans le Code du travail (prévention du risque chimique) : Article L231-7 ; Articles R.231-52 à R231-52-18 . Autres textes : Arrêté du 20 avril 1994 modifié relatif à la déclaration, la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances (JO du 8 mai 1994) ; Arrêté du 27 juin 1994 portant agrément de l'INRS pour l'examen des dossiers de déclaration des substances nouvelles (JO du 8 juillet 1994) ; Arrêté du 28 juin 1994 relatif aux montants des redevances pour les déclarations des substances nouvelles (JO du 8 juillet 1994) ; Circulaire DRT 94/11 du 25 juillet 1994 relative à la déclaration des produits chimiques (Bulletin officiel Travail, Emploi, Formation professionnelle, n° 94/16 du 5 septembre 1994, pp. 125-158).

tion. La déclaration doit être faite par tout nouveau fabricant ou tout nouvel importateur. Les substances fabriquées dans un des pays du marché communautaire et destinées à être exportées en totalité hors du marché communautaire ne sont pas concernées, sauf en cas de réimportation dans l'Union européenne (UE).

Exclusions et dérogations

N'entrent pas dans la réglementation sur les substances chimiques nouvelles pouvant être couvertes par d'autres réglementations, à titre indicatif :

- les substances qui sont présentes dans l'EINECS ;
- les ingrédients actifs de médicaments ;
- les matières actives destinées exclusivement à être incorporées dans les produits antiparasitaires à usage agricole et produits assimilés ;
- les substances utilisées exclusivement comme additifs ou arômes dans les aliments ;
- les substances utilisées exclusivement dans l'alimentation animale ;
- les substances radioactives ;
- les substances contenues dans des produits cosmétiques au stade fini destinées à l'utilisateur final et les substances cosmétiques destinées telles quelles à l'utilisateur final ;
- les substances en transit sous contrôle douanier, si elles ne font pas l'objet d'un traitement ou d'une transformation ;
- les substances chimiques qui ne sont présentes que dans les déchets ;
- les substances incorporées dans un matériel : les articles sont en principe exclus de la réglementation, sauf cas particuliers.

Ne sont pas soumis à déclaration préalable :

- les substances dont les quantités mises sur le marché de l'UE sont < à 10 kg par an et par fabricant ;
- les polymères contenant moins de 2 % de substance nouvelle sous forme combinée¹⁵ ;
- les substances mises sur le marché de l'UE pour exclusivement des opérations de recherche et de développement scientifiques sous contrôle dans des quantités comprises entre 10 kg et 100 kg par an et par fabricant.

15. Toutefois, si ces substances sont classées très toxiques, toxiques, cancérigènes, toxiques pour la reproduction ou mutagènes, le fabricant ou l'importateur doit communiquer aux autorités compétentes françaises : les données disponibles relatives à la toxicité aiguë ; les méthodes et précautions à prendre en ce qui concerne l'usage, le transport, la manipulation et le stockage de la substance ou des préparations qui la contiennent ; les mesures à prendre en cas d'incendie, de contact avec l'eau, de dispersion accidentelle ou d'accident de personne.

Cas particulier des substances au stade recherche et développement de production

Les substances au stade recherche et développement (R&D) de production ont pour objectif de tester un procédé de fabrication (*process*) et/ou de tester les applications. Ces substances bénéficient d'une exemption de déclaration pour une période limitée à un an reconductible sur demande motivée du fabricant ou de l'importateur. Un certain nombre d'informations doit être transmis aux autorités compétentes concernées.

Dossier de déclaration des substances chimiques nouvelles

Selon la législation actuelle, le dossier de déclaration doit comporter différents éléments dont le dossier technique. Celui-ci est de plusieurs types en fonction des quantités de substance (estimées par an et par fabricant) mises sur le marché (figure 1).

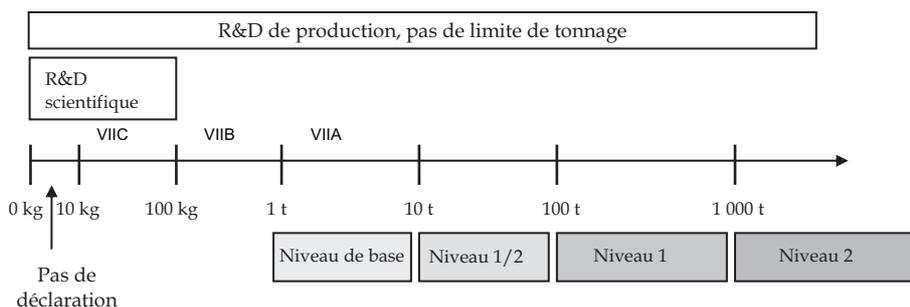


Figure 1 : Législation et catégories de substance en fonction du tonnage

Le contenu du dossier technique varie en fonction du tonnage et est établi selon les Annexes VII et VIII de la Directive 67/548/CEE (tableau I).

Si les quantités de substance mises sur le marché atteignent, par fabricant :

- soit 10 tonnes (Niveau 1/2), 100 tonnes (Niveau 1) ou 1 000 tonnes (Niveau 2) par an ;
- soit 50 tonnes, 500 tonnes ou 5 000 tonnes en quantités cumulées ;

le déclarant doit en informer les autorités compétentes concernées. Un projet de programme d'essais complémentaires établi par les autorités compétentes est alors soumis au déclarant et aux autres autorités compétentes de l'UE pour avis. Puis le programme d'essais à réaliser est adressé au déclarant en vue de la constitution du dossier technique de niveau supérieur (1 ou 2).

Tableau I : Caractéristiques et tests demandés pour les substances ayant une production > 10 kg/an

Informations ou types d'études	Dossiers techniques		
	VII-C (10 kg-100 kg/an)	VII-B (100 kg-1 t/an)	VII-A (> 1 t/an)
Identité de la substance	x	x	x
Information produit-utilisation	x	x	x
Propriétés physico-chimiques			
État physique	x	x	x
Pt de fusion		x	x
Pt ébullition		x	x
Densité			x
Pression de vapeur			x
Tension superficielle			x
Hydrosolubilité		x	x
Coefficient de partage		x	x
Inflammabilité	x	x	x
Explosibilité			x
Propriétés comburantes			x
Granulométrie			x
Études toxicologiques			
Toxicité aiguë			
Orale	x ^a	x ^a	x ^b
Dermale ou inhalation			x ^c
Irritation cutanée		x	x
Irritation oculaire		x	x
Sensibilisation cutanée		x	x
Étude de toxicité par doses répétées 28 jours			x
Étude de mutagenèse			
Essai bactériologique (mutation réverse)		x	x
Essai non bactériologique (d'aberration ou de dommage chromosomique <i>in vitro</i> de préférence)			x
Dépistage de la toxicité liée à la reproduction			x
Évaluation du comportement toxicocinétique			x

^a les gaz devraient être testés par inhalation ; ^b les gaz et les liquides volatils devraient être testés par inhalation ;

^c le choix de la deuxième voie d'administration dépendra de la nature de la substance et du type d'exposition auquel l'homme risque d'être soumis.

Les essais toxicologiques sont réalisés selon des lignes directrices européennes publiées dans l'Annexe V de la Directive 67/548/CEE ou selon des lignes directrices OCDE (Organisation de coopération et de développement économique).

Programme d'essais toxicologiques complémentaires pour les dossiers de niveau 1 (100 tonnes)

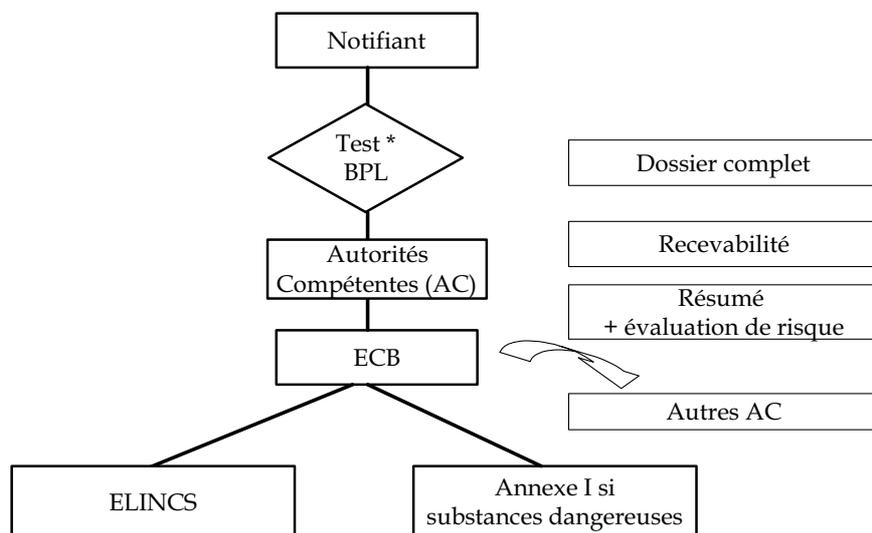
- Étude de reprotoxicité (1 ou 2 générations – une espèce) ;
- Étude de tératogenèse (1^{ère} espèce) : requise lorsque la tératogenèse n'a pas été examinée ou évaluée dans l'étude de reprotoxicité ;
- Étude de toxicité subchronique et/ou chronique : requise si l'étude par doses répétées (28 jours) a montré par exemple des lésions graves ou irréversibles, un niveau sans effet très bas ou l'absence de niveau sans effet, une relation évidente entre la structure chimique de la substance considérée et celles d'une autre substance existante dont les dangers sont prouvés ;
- Essais additionnels de mutagenèse et/ou étude(s) de dépistage de cancérogenèse tels que ceux prescrits dans la stratégie pour les essais décrits à l'Annexe V de la Directive 67/548/CEE. Lorsque les deux essais du dossier de base sont négatifs, des essais supplémentaires sont réalisés en fonction des propriétés spécifiques et de l'utilisation envisagée de la substance. Lorsqu'un essai ou les deux essais du dossier de base sont positifs, une étude supplémentaire doit inclure des essais explorant la même cible biologique dans d'autres méthodes d'essai *in vivo* ;
- Informations toxicocinétiques de base.

Programme d'essais toxicologiques pour les dossiers de niveau 2 (1 000 tonnes)

Sauf s'il existe des raisons valables de ne pas y recourir et qu'une justification en est fournie, le programme d'essais doit porter sur les aspects suivants :

- Étude de toxicité chronique ;
- Essai de cancérogenèse ;
- Étude de fertilité (plusieurs générations) : seulement si un effet sur la fertilité a été constaté au niveau 1 ;
- Étude de tératogenèse (espèce non utilisée dans le test correspondant au niveau 1) ;
- Étude de toxicocinétique comprenant la biotransformation et la pharmacocinétique ;
- Autres essais complémentaires pour l'investigation de la toxicité sur un organe ou un système particulier.

Le processus de notification est résumé par la figure 2.



* Tests toxicologiques réalisés selon les méthodes européennes (Annexe V Directive 67/548/CEE) ou selon les lignes directrices OCDE

Figure 2 : Résumé du processus de notification

Établissement de l'évaluation du risque

Après examen des dossiers de notification déposés, l'évaluation conjointe des dangers et de l'exposition permet d'établir une caractérisation des risques pour la santé humaine selon les secteurs considérés (consommateurs – travailleurs) (figure 3). Les conclusions qui en résultent sont les suivantes (article 2 §2 de la Directive 93/67/CEE) :

- la substance ne pose pas de problème dans l'immédiat ;
- la substance pose un problème : demande de renseignements complémentaires (effets et/ou exposition) au seuil de tonnage suivant ;
- la substance pose un problème : demande immédiate de renseignements complémentaires (effets et/ou exposition) ;
- la substance pose un problème : recommandations concernant la réduction des risques.

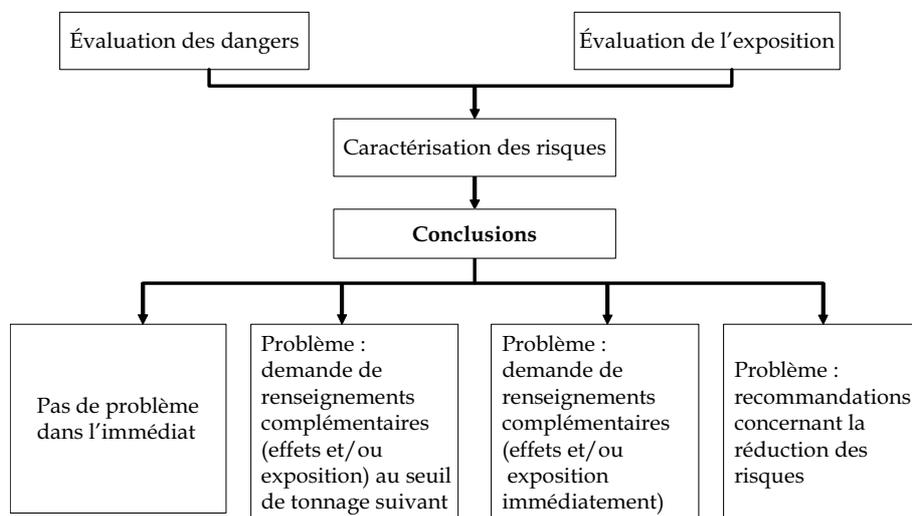


Figure 3 : Processus d'évaluation de risque

ANNEXE 3

Éthers de glycol : contexte réglementaire et évolutions en 2005

Réglementation française et européenne

Classification CMR (cancérogène, mutagène et reprotoxique)

La classification et l'étiquetage des substances dangereuses sont déterminés par la Directive 67/548/CEE du 27 juin 1967, concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses. Cette Directive a été modifiée 9 fois et adaptée 29 fois au progrès technique (voir annexe 9 : Classification européenne).

Aujourd'hui, les dispositions françaises sont déterminées par l'arrêté du 20 avril 1994 modifié par l'arrêté du 9 novembre 2004.

Dans la réglementation française, 7 éthers de glycol sont classés aujourd'hui en CMR reprotoxiques de catégorie 2 (EGEE/A, EGME/A, 1PG2ME/A, DEGDME) et un éther de glycol (DEGME) en CMR reprotoxique de catégorie 3.

Par ailleurs, la Directive 2004/73/CE du 30 avril 2004, correspondant à la 29^e adaptation au progrès technique (ATP) de la Directive 67/548/CE, prévoit la classification en CMR reprotoxique de catégorie 2 de deux autres éthers de glycol (l'EGDME et le TEGDME). Cette dernière ATP devrait être transcrite en droit français au plus tard le 31 octobre 2005.

Restriction d'usage

Par arrêté du 7 août 1997 modifié, relatif aux limitations de mise sur le marché et d'emploi de certains produits contenant des substances dangereuses, le Ministère français chargé de la Santé interdit la mise sur le marché et l'importation à destination du public des produits « cancérogènes, mutagènes et toxiques pour la reproduction » de catégories 1 et 2, dont font partie les 7 éthers de glycol cités ci-dessus : EGEE, EGEEA, EGME, EGMEA, 1PG2ME, 1PG2MEA, DEGDME, ainsi que les préparations en contenant 0,5 % ou plus.

Enfin, pour anticiper la réglementation européenne, l'arrêté du 28 octobre 2004 fixe les interdictions de mise sur le marché et les limitations d'usage pour les deux derniers éthers de glycol classés en 2004 : l'EGDME et le TEGDME, ainsi que les préparations en contenant 0,5 % ou plus.

Toutefois, cet arrêté de restriction d'usage ne s'applique pas dans plusieurs cas :

- à l'usage professionnel où la réglementation française prévoit l'évaluation a priori des risques à la charge de l'employeur et pour chaque poste de travail ;
- aux médicaments à usage humain ou vétérinaire mentionnés à l'article L.511 du Code de la Santé Publique (CSP) ;
- aux produits cosmétiques au sens de l'article L.658-1 du Code de la Santé Publique ;
- aux produits dérivés des huiles minérales, prévus pour être utilisés comme combustibles ou carburants dans des installations de combustion mobiles ou fixes ;
- aux combustibles vendus en systèmes fermés ;
- aux couleurs pour artistes.

Ainsi, pour les médicaments et les cosmétiques, l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé¹⁶ (Afssaps) a, pour compléter ce dispositif, émis deux décisions (Décisions du 24 août 1999 publiées au JO du 1^{er} Septembre 2005) visant à interdire l'importation, l'exportation, la mise sur le marché à titre gratuit ou onéreux, la détention en vue de la vente ou de la distribution à titre gratuit, l'utilisation de certains produits destinés à l'homme (médicaments et cosmétiques) contenant de l'EGME, de l'EGEE et/ou leurs acétates. Des dispositions similaires concernant l'EGDME, le DEGDME et le TEGDME ont été fixées par la Décision du 5 mai 2003 (JO du 14 mai 2003) pour les cosmétiques.

Bien qu'ils ne soient pas utilisés dans les médicaments, une mesure de police sanitaire est en préparation pour les spécialités pharmaceutiques.

De même, pour la prévention en milieu professionnel, le décret n° 2001-97 du 1^{er} février 2001, modifiant le code du travail, étend aux substances CMR reprotoxiques de catégorie 1 ou 2, les mêmes contraintes que celles appliquées depuis le 1^{er} janvier 1993 aux substances cancérogènes. Il fixe ainsi les règles d'utilisation de ces produits dans le milieu professionnel, au nombre desquels figurent les éthers de glycol les plus dangereux :

- l'obligation de substitution d'un agent CMR 1 ou 2 par un produit moins dangereux, sauf impossibilité technique ;
- l'organisation d'un suivi médical renforcé et l'organisation de la traçabilité des expositions ;
- l'interdiction d'exposer des femmes enceintes ou allaitantes.

Le décret du 23 décembre 2003 relatif à la prévention du risque chimique complète ce dispositif par la mise en place de dispositions pour les agents chimiques dangereux dont les CMR reprotoxiques de catégorie 3 :

- la recherche de substitution d'un agent chimique dangereux préalablement à toute autre mesure de réduction de risque ;
- l'organisation d'une surveillance médicale spéciale.

Évolutions et discussions européennes

Des évolutions sont à prévoir. Par exemple, en 2005, le DEGEE est en cours de discussion au niveau européen pour une éventuelle classification en CMR reprotoxique.

Évolution des utilisations industrielles

Les producteurs d'éthers de glycol membres de l'OSPA rappellent par une charte datée du 1^{er} mars 2004 les engagements qu'ils ont pris depuis 1996 et les actions qu'ils mènent pour supprimer les risques liés aux éthers de glycol classés toxiques pour la reproduction. Cette charte exige de ne pas utiliser d'éthers de glycol classés CMR de catégorie 2 dans les produits destinés au public, et limite l'usage de ces éthers de glycol aux applications industrielles pour lesquelles aucun substitut n'a encore été trouvé. C'est le cas de l'EGME, l'EGEE, l'EGDME et le DEGDME.

Cette charte explique l'évolution des utilisations des éthers de glycol dans le milieu industriel où une politique active de substitution des substances classées CMR reprotoxiques de catégorie 2 a été mise en œuvre. Elle a permis de réduire leurs utilisations à des niveaux très faibles par rapport à ceux rencontrés dans les années 1990.

ANNEXE 4

Production/utilisation des éthers de glycol en tonnes par an

Nom abrégé	N°CAS	Tonnages en Europe (données de la base ESIS)*	Tonnages 2002 (données fournies par les industriels de l'OSPA)	Tendance 2000-2004 (données fournies par les industriels de l'OSPA)
Dérivés de l'éthylène-glycol				
Dérivés du monoéthylène glycol				
EGME	109-86-4		6 000 en Europe (production) 250 en France (utilisation ; production nulle)	Baisse en Europe, baisse en France de 20 % par an
EGMEA	110-49-6		Pas de production en Europe	Plus d'importation ni de production européenne
EGEE	110-80-5		2 000 en Europe (production)	Baisse rapide (500 prédit en 2005)
EGEEA	111-15-9		Pas de production en Europe	Éliminé des enduits Plus de production européenne
EGDME	110-71-4		> 1 000 (production)	
EGDEE	629-14-1	< 10	Pas de production en Europe	
EGnPE	2807-30-9		Pas de production en Europe Production aux États-Unis	
EGiPE	109-59-1		1 200 (production)	
EGBE	111-76-2		144 000 en Europe (production ; utilisation de 85 000) 9 000 en France (utilisation)	Hausse
EGBEA	112-07-2		13 000 en Europe (production)	Hausse
EGtertBE	7580-85-0		Production uniquement au Japon	
EGDBE	112-48-1		Pas de production en Europe	
EGHE	112-25-4		1 000 – 10 000 en Europe (production)	
EGPhE	122-99-6		1 000 – 10 000 en Europe (production)	

Éthers de glycol

Nom abrégé	N°CAS	Tonnages en Europe (données de la base ESIS)*	Tonnages 2002 (données fournies par les industriels de l'OSPA)	Tendance 2000-2004 (données fournies par les industriels de l'OSPA)
Dérivés du diéthylène glycol				
DEGME	111-77-3		10 000 en Europe (production)	
DEGDME	111-96-6		1 000 – 10 000 en Europe (production)	
DEGEE	111-90-0		5 000 en Europe (production)	
DEGDDEE	112-36-7	< 10	Pas de production en Europe	
DEGEEA	112-15-2	10 - 1 000	Pas de production en Europe	
DEGnPE	6881-94-3	10 - 1 000	Pas de production en Europe	
DEGBE	112-34-5		50 000 en Europe (production)	Hausse
DEGBEA	124-17-4		13 000 en Europe (production)	Hausse
DEGHE	112-59-4		100 - 1 000 en Europe (production)	
Dérivés du triéthylène-glycol				
TEGME	112-35-6		10 000 en Europe (production estimée approximative)	
TEGDME	112-49-2		> 1 000 en Europe (production)	
TEGEE	112-50-5		1 000 en Europe (production)	
TEGBE	143-22-6		25 000 en Europe (production approximative)	
Dérivés du tétraéthylène glycol				
TétraEGME	23783-42-8		Ces dérivés du tétraéthylène glycol ne sont pas produits séparément mais sont des composants significatifs des produits commerciaux préparés à partir des triéthylènes glycol décrits ci-dessus	
TétraEGBE	1559-34-8			

Nom abrégé	N°CAS	Tonnages en Europe (données de la base ESIS)*	Tonnages 2002 (données fournies par les industriels de l'OSPA)	Tendance 2000-2004 (données fournies par les industriels de l'OSPA)
Dérivés du propylène-glycol				
2PG1ME	107-98-2		170 000 en Europe (production ; utilisation de 85 000) 9 000 en France (utilisation)	Hausse
2PG1MEA	108-65-6		70 000 en Europe (production ; utilisation de 69 000) 7 300 en France (utilisation)	Hausse des exportations Baisse de l'utilisation
PGDME	7778-85-0		Pas de production en Europe	
PGDEE	10221-57-5		Pas de production en Europe	
2PG1EE	1569-02-4	> 1 000	20 000 en Europe (production)	
2PG1BE	5131-66-8	10 - 1 000	12 000 en Europe (production)	
1PG2BE	57018-52-7			
2PG1tBE	57018-52-7		Pas de production en Europe	
DPGME	34590-94-8		> 10 000 en Europe (production)	
DPGMEA	88917-22-0		Pas de production en Europe	
DPGDME	111109-77-4		Pas de production en Europe	
DPGEE	30025-38-8		Pas de production en Europe	
DPGBE	24083-03-2	< 10		
DPGnBE	29911-28-2	> 1 000		
DPGiBE	132739-31-2		Pas de production en Europe	
TPGME	20324-33-8 25498-49-1	10 – 1 000 > 1 000		
TPGBE	55934-93-5	10 – 1 000		
TPGnPE	96077-04-2		Pas de production en Europe	
2PG1PhE	770-35-4	> 1 000		
1PG2PhE	4169-04-4	< 10		
PGPhE (mélange)	41593-38-8		Pas de production en Europe	
PGnPE	1569-01-03			
DPGnPE	29911-27-1	< 10		
1PG3ME	1589-49-7		Pas de production en Europe	

*European chemical substance information system (consultée début 2005)

Production supérieure à 1 000 tonnes par an : *High production volume chemicals* (HPVC) ; Production entre 10 et 1 000 tonnes par an : *Low production volume chemicals* (LPVC) ; Production < à 10 tonnes par an : *Not produced in commercial quantities* ou *has not been reported by EU Industry as an HPVC or LPVC*

ANNEXE 5

Évaluations des dangers

Évaluation par le NTP

Le *National Toxicology Program* (NTP)¹⁷ est un programme qui fait appel aux différentes agences américaines et qui a pour mission : d'évaluer les risques présentés par des substances qui concernent la santé publique ; de développer et de valider des méthodes d'analyse ; de développer des approches et fournir des données afin de valider les bases scientifiques de l'évaluation de risque ; de communiquer avec tous les partenaires tels que le gouvernement, l'industrie, les établissements scientifiques, la communauté environnementale et le public. Le NTP a conduit deux longues études (sur 2 ans) de toxicité et de carcinogénicité sur deux éthers de glycol : l'EGBE et le 2PGtBE.

EGBE – CAS N° 111-76-2

Rapport du NTP - 2000 -Toxicology and carcinogenesis studies of 2-butoxyethanol (CAS N°. 111-76-2) in F344/N rats and B6C3F1 mice (inhalation studies)

Under the conditions of these 2-year inhalation studies, there was no evidence of carcinogenic activity¹⁸ of 2-butoxyethanol in male F344/N rats exposed to 31.2, 62.5, or 125 ppm. There was equivocal evidence of carcinogenic activity of 2-butoxyethanol in female F344/N rats based on the increased combined incidences of benign or malignant pheochromocytoma (mainly benign) of the adrenal medulla. There was some evidence of carcinogenic activity of 2-butoxyethanol in male B6C3F1 mice based on increased incidences of hemangiosarcoma of the liver. A marginal increase in the incidences of forestomach squamous cell papilloma and an increase in the incidences of hepatocellular carcinoma may have been exposure related. There was some evidence of carcinogenic activity of 2-butoxyethanol in female B6C3F1 mice based on increased incidences of forestomach squamous cell papilloma or carcinoma (mainly papilloma). Increased incidences of forestomach neoplasms in male and female mice occurred in groups in which ulceration and hyperplasia were also present. Exposure to 2-butoxyethanol caused a mild regenerative anemia and effects secondary to the anemia.

17. <http://ntp-server.niehs.nih.gov/>

18. *No evidence of carcinogenic activity* is demonstrated by studies that are interpreted as showing no chemical-related increases in malignant or benign neoplasms.

2PGtBE - CAS N° 57018-52-7

Rapport du NTP – 2004 - Toxicology and carcinogenesis studies of propylene glycol mono-t-butyl ether (cas no. 57018-52-7) in F344/N rats and B6C3F1 mice and a toxicology study of propylene glycol mono-t-butyl ether in male NBR rats (inhalation studies)

Under the conditions of this 2-year inhalation study, there was equivocal evidence of carcinogenic activity of propylene glycol mono-t-butyl ether in male F344/N rats based on marginally increased incidences of renal tubule and liver neoplasms. There was no evidence of carcinogenic activity of propylene glycol mono-t-butyl ether in female F344/N rats exposed to 75, 300, or 1.200 ppm. There was clear evidence of carcinogenic activity of propylene glycol mono-t-butyl ether in male and female B6C3F1 mice based on increased incidences of liver neoplasms. Exposure of male rats to propylene glycol mono-t-butyl ether resulted in nonneoplastic lesions of the kidney characteristic of α_2 -globulin accumulation. Exposure to propylene glycol mono-t-butyl ether resulted in nonneoplastic lesions of the liver and nose in male and female rats, the liver in male and female mice, and the eyes in female rats and mice. Kinetic and biomarker studies indicated that clearance was saturated at the 1.200 ppm exposure for both rats and mice.

Évaluations par le CIRC

Le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) fait partie de l'Organisation mondiale pour la santé (OMS) et a pour mission la coordination et la conduite de recherche sur les causes de cancer chez l'homme, les mécanismes de la carcinogénicité, et de développer des stratégies scientifiques pour contrôler la progression du cancer. Les monographies du CIRC¹⁹ sur l'Évaluation des risques de cancérogénicité pour l'homme sont des évaluations indépendantes, réalisées par des experts internationaux, des risques cancérogènes qu'un grand nombre de différents agents font courir à l'homme. Depuis son lancement en 1972, cette série a permis de faire le point sur plus de 895 agents. Le CIRC vient de réaliser une évaluation de la cancérogénicité de deux éthers de glycol : l'EGBE et le 2PGtBE.

EGBE – CAS N° 111-76-2

Résumé du rapport de l'évaluation – Vol. 88, 2-9 juin 2004

2-butoxyethanol is widely used as a solvent in paints and paint thinners, glass and surface cleaners, personal-care products, and as a chemical intermediate.

An inhalation study in male and female rats and mice found increased incidence of liver haemangiosarcoma in male mice, of forestomach squamous-cell papilloma and carcinoma in female mice, and equivocal results in female rats. A link between haemolysis and mouse liver neoplasia has been proposed, but the Working Group noted that other potential mechanisms have not been investigated.

The Working Group concluded that 2-butoxyethanol is not classifiable as to its carcinogenicity to humans (Group 3) on the basis of limited evidence in experimental animals and inadequate evidence in humans.

2PGtBE - CAS N° 57018-52-7

Résumé du rapport de l'évaluation – Vol. 88, 2-9 juin 2004

1-tert-butoxy-2-propanol is used increasingly as a solvent in coatings, glass and surface cleaners, inks, adhesives, and nailpolish lacquers. An inhalation study in male and female rats and mice found increased incidence of liver tumours, including hepatoblastoma, in male and female mice and equivocal results in male rats. There was a discussion about whether to regard hepatoblastoma as a rare tumour or a variant of hepatocellular carcinoma.

The Working Group concluded that 1-tert-butoxy-2-propanol is not classifiable as to its carcinogenicity to humans (Group 3) on the basis of limited evidence in experimental animals and inadequate evidence in humans.

ANNEXE 6

Classification des substances cancérogènes

Les substances chimiques sont classées en fonction de leur potentiel cancérogène. Les classifications qui font référence sont celle de l'Union européenne, qui a valeur réglementaire (tableau I), celle du Centre international de recherche sur le cancer (CIRC/IARC) et celle de l'*US-Environmental Agency* (US-EPA) (tableau II).

Tableau I : Classification réglementaire des substances cancérogènes selon l'Union européenne

Catégorie de l'Union européenne	Critères de classification
1 : Substances que l'on sait être cancérogènes pour l'homme	Preuves suffisantes chez l'homme
2 : Substances devant être assimilées à des substances cancérogènes pour l'homme	Preuves justifiant une forte présomption que l'exposition de l'homme à de telles substances peut provoquer un cancer. Présomption généralement fondée sur des études appropriées à long terme chez l'animal
3 : Substances préoccupantes pour l'homme en raison d'effets cancérogènes possibles, mais pour lesquelles les informations disponibles ne permettent pas une évaluation satisfaisante	Preuves adéquates chez l'animal mais insuffisantes pour classer cette substance en catégorie 2

Tableau II : Classification des substances cancérogènes selon le CIRC et l'US-EPA

Groupe	CIRC	US-EPA
Cancérogène chez l'homme	1 : Preuves suffisantes chez l'homme	A : Preuves suffisantes chez l'homme
Cancérogène probable chez l'homme	2A : Preuves limitées chez l'homme et preuves suffisantes chez l'animal	B1 : Preuves limitées chez l'homme B2 : Preuves non adéquates chez l'homme et preuves suffisantes chez l'animal
Cancérogène possible chez l'homme	2B : Preuves limitées chez l'homme et absence de preuves suffisantes chez l'animal	C : Preuves inadéquates chez l'homme et preuves limitées chez l'animal
Inclassable	3 : Preuves insuffisantes chez l'homme et insuffisantes ou limitées chez l'animal	D : Preuves insuffisantes chez l'homme et l'animal
Probablement non cancérogène chez l'homme	4 : Indications d'absence de cancérogénicité chez l'homme et chez l'animal	E : Indications d'absence de cancérogénicité chez l'homme et chez l'animal

ANNEXE 7

Évaluations de risque

Rapports d'évaluation européens

Les rapports d'évaluation européens sont réalisés selon le Règlement n° 793/93/CE du Conseil concernant l'évaluation et le contrôle des risques présentés par les substances existantes. Les substances existantes sont les substances en utilisation dans la communauté européenne avant 1981 et listées dans l'*European Inventory of Existing Commercial chemical Substances* (EINECS). Le règlement n° 793/93/CE définit un cadre pour l'évaluation du risque sur la santé humaine et l'environnement de ces substances si elles sont produites ou importées en Europe à des volumes supérieurs à 10 tonnes.

Depuis 1999, plusieurs rapports d'évaluations de risque ont été demandés et mis en œuvre par l'*European Chemicals Bureau* (ECB). Les rapports sur le DEGME et le DEGBE sont terminés et ont été publiés en 2000 (les résumés de ces évaluations sont donnés ci-dessous à titre indicatif). L'EGBE et son acétate, ainsi que le 2PG1ME et son acétate sont en cours d'évaluation.

DEGME – CAS N° 111-77-3

Rapport d'évaluation de risque européen – 2000

OVERALL RESULTS OF THE RISK ASSESSMENT

CAS-No. 111-77-3

EINECS-No. 203-906-6

IUPAC name 2-(2-methoxyethoxy)ethanol

Environment

- i) There is need for further information and/or testing
- ii) There is at present no need for further information and/or testing or for risk reduction measures beyond those which are being applied
- iii) There is a need for limiting the risks: risk reduction measures which are already being applied shall be taken into account

Consumers

- i) There is need for further information and/or testing
- ii) There is at present no need for further information and/or testing or for risk reduction measures beyond those which are being applied
- iii) There is a need for limiting the risks: risk reduction measures which are already being applied shall be taken into account

Conclusion (iii) is reached because:

The risk assessment indicates a possible concern for consumers through the uses of paint or paint stripper containing the substance.

Workers

- i) There is need for further information and/or testing
- ii) There is at present no need for further information and/or testing or for risk reduction measures beyond those which are being applied
- iii) There is a need for limiting the risks: risk reduction measures which are already being applied shall be taken into account

Conclusion (iii) is reached because:

- based on the information available with respect to anticipated effects after occupational dermal exposure (repeated dose studies), risk reducing measures should be taken for occupational exposure scenarios 1 (production of DEGME), 2 (production of products containing DEGME) and 4 (manual application of products containing DEGME).
- based on the information available with respect to anticipated effects after occupational dermal exposure (developmental effects) risk reducing measures should be taken for occupational exposure scenario 2 and 4.

It might be possible that in some industrial premises these worker protection measures are already applied.

In relation to all other potential adverse effects and the worker population, it is concluded that based on the available information at present no further information/testing on the substance is needed.

DEGBE – CAS N° 112-34-5

Rapport d'évaluation de risque européen – 2000

OVERALL RESULTS OF THE RISK ASSESSMENT

CAS-No. 112-34-5

EINECS-No. 203-961-6

IUPAC name 2-(2-butoxyethoxy)ethanol

Environment

- i) There is need for further information and/or testing
- ii) There is at present no need for further information and/or testing or for risk reduction measures beyond those which are being applied
- iii) There is a need for limiting the risks: risk reduction measures which are already being applied shall be taken into account

Consumers

- 126 i) There is need for further information and/or testing

- () ii) There is at present no need for further information and/or testing or for risk reduction measures beyond those which are being applied
- (X) iii) There is a need for limiting the risks: risk reduction measures which are already being applied shall be taken into account

Conclusion (iii) is reached because:

- health risks for the consumer are expected to occur due to the use of DEGBE in paint spraying applications.

Workers

- () i) There is need for further information and/or testing
- () ii) There is at present no need for further information and/or testing or for risk reduction measures beyond those which are being applied
- (X) iii) There is a need for limiting the risks: risk reduction measures which are already being applied shall be taken into account

Conclusion (iii) is reached because:

- eye exposure due to incidental splashing should be avoided when the pure substance is handled.
- local effects on skin cannot be excluded in occupational scenario 4 (manual application of products containing DEGBE) after repeated dermal exposure.
- based upon the present information with regard to anticipated effects after repeated inhalation exposure in workers reduction measures should be taken for occupational exposure scenario 4 (manual application of products containing DEGBE).

It might be possible that in some industrial premises these worker protection measures are already applied.

EGBE – CAS N° 111-76-2

Rapport d'évaluation de risque européen - 2005

Données non disponibles

EGBEA – CAS N° 112-07-2

Rapport d'évaluation de risque européen - 2005

Données non disponibles

2PG1ME et 2PG1MEA – CAS-N° 107-98-2 et 108-65-6

Rapport d'évaluation de risque européen – en cours

Données non disponibles

ANNEXE 8

Rapports d'évaluation des SIAM

Les éthers de glycol qui n'ont pas fait l'objet d'un rapport d'évaluation de risque européen, d'une monographie du CIRC récente ou d'un rapport NTP depuis 1999 sont listés ci-dessous. Ils ont été évalués sous l'égide de l'OCDE lors de réunions internationales : les SIAM (*SIDS Initial Assessment Meeting*).

Substance	N°CAS	Année de parution	SIAM	Conclusions et recommandations
DPGME	34590-94-8 13429-07-7 ; 20324-32-7 ; 13588-28-8 ; 55956-21-3 (isomères)	2001	US SIAM 12	Faible toxicité pour la santé humaine ; non prioritaire pour travaux ultérieurs
TEGBE	143-22-6	2002	US SIAM 15	Faible toxicité pour la santé humaine ; non prioritaire pour travaux ultérieurs
TétraGME	23783-42-8	2002	US SIAM 15	Faible toxicité pour la santé humaine ; non prioritaire pour travaux ultérieurs
TétraGBE	1559-34-8	2002	US SIAM 15	Faible toxicité pour la santé humaine ; non prioritaire pour travaux ultérieurs
2PG1BE ou PGnBE	5131-66-8	2003	ICCA US SIAM 17	Faible toxicité pour la santé humaine ; non prioritaire pour travaux ultérieurs
DPGnBE	29911-28-2	2003	US SIAM 17	Faible toxicité pour la santé humaine ; non prioritaire pour travaux ultérieurs
DPGMEA (sn)	88917-22-0	2003	US SIAM 17	Faible toxicité pour la santé humaine ; non prioritaire pour travaux ultérieurs
TPGME	20324-33-8 25498-49-1 (mélange isomères)	2003	US SIAM 17	Faible toxicité pour la santé humaine ; non prioritaire pour travaux ultérieurs
EGPhE	122-99-6	2004	US SIAM 18	Faible toxicité pour la santé humaine ; non prioritaire pour travaux ultérieurs
PGPhE	770-35-4 (alpha isomère)	2004	US SIAM 18	Faible toxicité pour la santé humaine ; non prioritaire pour travaux ultérieurs
PGPhE	4169-04-4 (bêta isomère)	2004	US SIAM 18	Faible toxicité pour la santé humaine ; non prioritaire pour travaux ultérieurs

Éthers de glycol

Substance	N°CAS	Année de parution	SIAM	Conclusions et recommandations
PGPhE	41593-38-8 (mélange isomères)	2004	US SIAM 18	Faible toxicité pour la santé humaine ; non prioritaire pour travaux ultérieurs
EGnPE	2807-30-9	2004	US SIAM 19	Irritation oculaire et cutanée et dépression du SNC ; non prioritaire pour travaux ultérieurs
EGBE	111-76-2	2004	US SIAM 19	Irritation oculaire et cutanée et dépression du SNC ; non prioritaire pour travaux ultérieurs
EGBEA	112-07-2	2004	US SIAM 19	Irritation oculaire et cutanée et dépression du SNC ; non prioritaire pour travaux ultérieurs
EGtertBE	7580-85-0	2004	US SIAM 19	Toxicité par doses répétées, candidat à des travaux complémentaires
EGHE	112-25-4	2004	US SIAM 19	Irritation oculaire et cutanée et dépression du SNC ; non prioritaire pour travaux ultérieurs

Les rapports sont disponibles sur le site web de l'UNEP (*United nations environment programme*) à l'adresse suivante :
<http://www.chem.unep.ch/irptc/sids/OECDSEIDS/INDEXCHEMIC.htm> à l'exception des SIAM 17, 18 et 19 qui ne sont pas encore en ligne.

ANNEXE 9

Classification européenne (Directive 67/548)²⁰

Éthers de glycol	N°CAS	Classe de danger	Phrase de risque R
Dérivés de l'éthylène glycol			
EGME	109-86-4	Repr Cat2 ; Xn	10, 60, 61, 20/21/22
EGMEA	110-49-6	Repr Cat2 ; Xn	60, 61, 20/21/22
EGDME	110-71-4	Repr Cat2 ; Xn	60, 61, 11, 19, 20
DEGME	111-77-3	Repr Cat3	63
DEGDME	111-96-6	Repr Cat2	10, 19, 60, 61
EGEE	110-80-5	Repr Cat2 ; Xn	10, 60, 61, 20/21/22
EGEEA	111-15-9	Repr Cat2 ; Xn	60, 61, 20/21/22
EGPE	2807-30-9	Xn ; Xi	10, 21, 36
EGiPE	109-59-1	Xn ; Xi	20/21, 36
EGPhE	122-99-6	Xn ; Xi	22, 36
EGBE	111-76-2	Xn ; Xi	20/21/22, 36/38
EGBEA	112-07-2	Xn	20/21
DEGBE	112-34-5	Xi	36
EGHE	112-25-4	Xn ; C	34, 21/22
DEGHE	112-59-4	Xn ; Xi	21, 41
TEGDME	112-49-2	Repr Cat2 ; Repr Cat3	19, 61, 62
TEGBE	143-22-6	Xi	41
Dérivés du propylène glycol			
2PG1ME	107-98-2		10
2PG1MEA	108-65-6	Xi	10, 36
PGDME	7778-89-0		11, 19
1PG2ME	1589-47-5	Repr Cat2 ; Xi	10, 61, 37/38, 41
1PG2MEA	70657-70-4	Repr Cat2 ; Xi	10, 61, 37
2PG1EE	1569-02-4		10, 67
2PG1EEA	54839-24-6		10, 67
PGDEE	10221-57-5		11, 19
2PG1BE	5131-66-8	Xi	36/38
2PG1tBE	57018-52-7	Xi	10, 41
DPGBE	24083-03-2	Xn	21/22

Repr Cat2 et Cat3 : substances classées toxiques pour la reproduction ; Xn : nocif ; Xi : irritant ; C : corrosif ; R10 : inflammable ; R11 : facilement inflammable ; R19 : peut former des peroxydes explosifs ; R20 : nocif par inhalation ; R21 : nocif par contact avec la peau ; R22 : nocif en cas d'ingestion ; R34 : provoque des brûlures ; R36 : irritant pour les yeux ; R37 : irritant pour les voies respiratoires ; R38 : irritant pour la peau ; R41 : risque de lésions oculaires graves ; R60 : peut altérer la fertilité ; R61 : risque pendant la grossesse d'effets néfastes pour l'enfant ; R63 : risque possible pendant la grossesse d'effets néfastes pour l'enfant ; R67 : l'inhalation de vapeurs peut provoquer somnolence et vertiges.

20. Dernière mise à jour à la 29^e adaptation au progrès technique (ATP) - OJL (*Official journal of the european union L. series (Legislation)*) 152 du 30/04/2004.

ANNEXE 10

Éthers de glycol dans les spécialités pharmaceutiques et les cosmétiques : données actualisées par l'Afssaps

Quatre éthers de glycol (EGME, EGEE et leurs acétates) ont fait l'objet d'une décision d'interdiction par le Directeur général de l'Afssaps en date du 24 août 1999 (JORF du 1^{er} septembre 1999), entérinée par la Commission européenne.

Trois autres éthers de glycol (EGDME, DEGDME et TEGDME) ont fait l'objet d'une décision d'interdiction dans les produits cosmétiques, en date du 5 mai 2003 (JORF du 14 juin 2003). Bien qu'ils ne soient pas utilisés dans les médicaments, une mesure de police sanitaire sera prise en ce sens avant fin 2005.

Médicaments

Seuls deux éthers de glycol sont actuellement utilisés dans des spécialités pharmaceutiques : EGPhE et DEGEE.

EGPhE

L'EGPhE est utilisé comme conservateur. Les quantités retrouvées dans les vaccins ainsi que dans trois produits à usage dermatologique ne sont pas de nature à poser un quelconque problème clinique à ce jour (2,5 à 5 µl/dose, 2 gels et 1 crème jusqu'à 0,5 %).

DEGEE

Dans les spécialités orales, le DEGEE commercialisé sous le nom de transcutol a été à l'origine d'accidents graves (atteintes rénales et comas), liés à un mésusage (consommation abusive) de la spécialité Pilosuryl®. L'AMM de Pilosuryl® a été suspendue en juin 2003 (suspension abrogée en juin 2004 suite au retrait du transcutol de la formulation). Par mesure de précaution,

l'AMM de la spécialité Urosiphon[®], qui contenait les mêmes quantités de transcutool, a également été suspendue en janvier 2004 (suspension abrogée en décembre 2004 suite au retrait du transcutool de la formulation). L'Afssaps a demandé à la société commercialisant le transcutool de réaliser une étude de toxicité à doses répétées d'une durée de 6 mois chez un non-rongeur (choix de l'espèce à valider par la firme), afin de mieux en définir le profil de sécurité. Dans l'attente de ces résultats, l'Afssaps envisage de classer le DEGEE sur la liste des excipients à effet notoire, sans seuil d'exonération.

Parmi les 12 spécialités pharmaceutiques administrées par voie topique, 4 sont formulées avec plus de 2 % de transcutool. Le profil de sécurité de ces derniers sera ré-examiné par la commission d'AMM.

Produits cosmétiques

Sept éthers de glycol sont actuellement utilisés en cosmétologie : EGPhE, EGBE, DEGBE, DEGEE, DPGME, 2PG1ME, et TPGME.

DEGEE

Le DEGEE (éthoxydiglycol), solvant utilisé dans les crèmes pour le visage et pour le corps, n'est pas réglementé actuellement. En considérant un scénario maximaliste prenant en compte des résultats actuellement disponibles de pénétration cutanée et de toxicité chronique, la commission de cosmétologie du 3 mars 2005 s'est prononcée en faveur d'une limitation provisoire du DEGEE dans les produits cosmétiques à la concentration maximale de 1,5 %. Cette concentration pourra être révisée sur la base des résultats d'une étude demandée par les experts, à savoir une étude de toxicité chronique d'une durée de 6 mois chez un non-rongeur (choix de l'espèce à valider par la firme).

EGPhE

La Commission européenne, dans sa directive 76/768 CE, a autorisé l'utilisation de l'EG-PhE comme conservateur pour les cosmétiques, à la concentration maximale de 1 %. Dans son avis du 6 mai 2003, la commission de cosmétologie, après une réévaluation des données, a entériné cette limite.

EGBE

134 L'EGBE est utilisé comme solvant dans les teintures capillaires. La commission de cosmétologie du 5 février 2004 se montre favorable à une limitation

de la concentration de l'EGBE dans les teintures capillaires à une concentration inférieure à 2 % dans les teintures non diluées et 4 % dans les colorations d'oxydation (diluée à 50 % avant application).

DEGBE

Le DEGBE est utilisé dans les teintures capillaires et n'est pas réglementé actuellement. La commission de cosmétologie réunie le 5 février 2004 s'est montrée favorable à une demande de limitation d'utilisation au niveau européen de cette substance afin de restreindre l'utilisation de cet éther de glycol aux teintures capillaires et de limiter la concentration à 9 % maximum.

Au vu des données toxicologiques actuellement disponibles et après avis de la commission de cosmétologie du 12 mai 2005, le Directeur général de l'Afssaps va proposer au Ministre chargé de la santé un projet d'arrêté visant à réglementer sur le territoire français 3 éthers de glycol utilisés dans les cosmétiques : l'EGBE (butoxyéthanol), le DEGBE et le DEGEE. Cet arrêté sera notifié dans le cadre de la clause de sauvegarde prévue par la directive à la Commission européenne. Il est à noter qu'au niveau européen, une présentation de l'état de l'évaluation pour ces 3 éthers de glycol ainsi que les propositions de réglementation pour l'EGBE et le DEGBE ont été effectuées par l'Afssaps en avril 2004, au groupe de travail permanent des produits cosmétiques de la Commission européenne (COMCOS).

Les autres éthers de glycol utilisés en cosmétologie (DPGME, 2PG1ME, TPGME) ne posent pas de problème à ce jour.

ANNEXE 11

Synthèse des données collectées concernant la présence d'éthers de glycol dans les produits de consommation

Les informations ont été recueillies auprès des fédérations des industries concernées par l'utilisation des éthers de glycol entre 2001 et 2002 : la FIPEC (Fédération des industries des peintures, encres, vernis et colorants), la FIP (Fédération des industries de la parfumerie), l'ADEPHY (Fédération regroupant des fabricants de produits d'entretien), l'AISS (Association des industries des savons et détergents), l'UIPP (Union pour la protection des plantes) qui a orienté vers la seule société française qui serait concernée (Scott's France), et également auprès de l'UFC (Union fédérale des consommateurs). Ces données ont été présentées dans le rapport du Conseil supérieur d'hygiène publique en 2002²¹.

Tableau 1 : Produits d'entretiens ménagers et produits d'embellissement des voitures

Catégories de produits	Nom de l'éther de glycol	Concentration dans la préparation	Source
Lavage de la vaisselle	Néant	Sans objet	AISS
Décapants pour four	Néant	Sans objet	ADEPHY
Lavage pour vitres	EGBE	Max 2 %	ADEPHY
	2PG1ME	Max 2 %	ADEPHY
	propoxypropanol	Max 2 %	ADEPHY
Désodorisant d'atmosphère	Néant	Sans objet	ADEPHY
Nettoyant universel	EGBE	4 %	UFC sept. 2001
Nettoyage de jantes	EGBE	Non communiquée	ADEPHY
Nettoyage de pare-chocs	EGBE	0,3 %	UFC sept. 2001
Nettoyant auto multi-usage	EGBE	4 %	UFC sept. 2001

21. Les éthers de glycol dans les produits de consommation et la santé. Groupe d'experts du Conseil supérieur d'hygiène publique de France – section des milieux de vie. 2002, 206p.

Tableau II : Produits cosmétiques

Catégories de produits	Nom de l'éther de glycol	Concentration maximale dans la préparation en %	Proportion de produits en %	Source
Crèmes pour le corps	EGPhE	1	50	FIP
	DEGEE	2	< 2	FIP
Produits rincés pour le corps	DEGEE	1	< 1	FIP
	EGPhE	1	50	FIP
	DPGME	0,015	?	FIP
Produits non rincés pour le corps	EGPhE	1	50	FIP
	DEGEE	2	<2	FIP
Produits de maquillage/ démaquillage	DEGEE	1	< 1	FIP
	EGPhE	1	50	FIP
Produits soins du visage	DEGEE	1	< 1	FIP
	EGPhE	1	50	FIP
Produits non rincés pour le visage	DPGME	0,04	?	FIP
Produits capillaires	DEGEE	0,15	< 1	FIP
	EGPhE	1	50	FIP
Produits de traitement capillaires rincés	DEGEE	1	< 1	FIP
	EGPhE	1	50	FIP
Coloration capillaire	EGBE	2	< 0,5	FIP
	DEGBE	9	< 2,5	
	2PG1ME	10	?	
Produits de coiffage	TPGME	1,2	?	FIP
Dissolvant pour ongle	2PG1ME	20	?	FIP
Lingettes bébés	EGPhE	0,3	?	UFC sept. 2001
Produits alcooliques (y compris les parfums et eau de toilette)	DEGEE	0,5	< 10	FIP

Tableau III : Produits de bricolage, de jardinage et d'entretien de la maison

Catégories de produits	Nom de l'éther de glycol	Concentration dans la préparation	Source
Peinture décorative ¹	EGBE	0,03-3%	FIPEC (enquête europe)
	EGBEA	1,2-1,5%	FIPEC (enquête europe)
	2PG1ME	0,5%	FIPEC (enquête europe)
	2PG1MEA	0,3%	FIPEC (enquête europe)
	DEGBE	0,4-4,4%	FIPEC
	DPGBE	0,4-4,4%	FIPEC
	EGPhE	0,4-4,4%	FIPEC
	TEGBE	0,4-4,4%	FIPEC
Vernis pour bois	Non détecté (seuil < 0,1 % de composé pour 100 g de vernis)	Sans objet	UFC enquête en cours de publication (10 vernis testés)
Vitrificateur	EGBE	1 %	UFC sept 2001
Vernis pour parquet	EGBE	1 %	UFC sept 2001
	DEGBE	5 %	UFC sept 2001
	TEGBE	0,2 %	UFC sept 2001
Pesticides de jardin	DEGME ²	3 %	Scott's France
	DEGBE	0,5 %	Scott's France
	2PG1ME	50 g/l	Scott's France
	DPGME	3 %	Scott's France

¹ Les peintures décoratives concernées sont celles en phase aqueuse ; ² Cet éther de glycol est classé reprotoxique de catégorie 3

ANNEXE 12

Identification et propriétés physico-chimiques des éthers de glycol

Éthers de glycol	N°CAS	Synonymes	Poids moléculaire	Densité	ppm* → mg/m ³	mg/m ³ → ppm
EGME	109-86-4	Éthylène glycol méthyl éther 2-Méthoxyéthanol Méthylglycol 1-Hydroxy-2-méthoxyéthane Méthylcellosolve	76,09	0,964	1 ppm = 3,11 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,321 ppm
EGMEA	110-49-6	Éthylène glycol méthyl éther acétate Acétate de méthylglycol 2-Méthoxyéthanol acétate Méthylcellosolve acétate	118,13	1,009	1 ppm = 4,83 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,2 ppm
EGDME	110-71-4	Éthylène glycol diméthyl éther 1,2-Diméthoxyéthane Diméthylglycol Monoglyme Diméthyl cellosolve	90,12	0,862	1 ppm = 3,69 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,27 ppm
DEGME	111-77-3	Diéthylène glycol méthyl éther 3, 6-Dioxa-1-heptanol 2-(2-Méthoxy éthoxy)éthanol Méthoxydiglycol Dowanol DM	120,1	1,035	1 ppm = 4,91 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,20 ppm
DEGDME	111-96-6	Diéthylène glycol diméthyl éther Bis(2-méthoxyéthyl)éther Diglycolméthyléther 2, 5, 8-Trioxanonane Diglyme Glyme-2 Diméthylcarbitol	134,2	0,945	1 ppm = 5,49 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,18 ppm
TEGME	112-35-6	Triéthylène glycol méthyl éther 2-(2-(2-Méthoxyéthoxy)éthoxy)éthanol Méthoxytriéthylène glycol Triglycol monométhyl éther	164,2	1,049	1 ppm = 6,72 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,15 ppm

Éthers de glycol

Éthers de glycol	N°CAS	Synonymes	Poids moléculaire	Densité	ppm* → mg/m ³	mg/m ³ → ppm
TEGDME	112-49-2	Triéthylène glycol diméthyl éther 1, 2-bis (Méthoxyéthoxy)éthane 2, 5, 8, 11-Tétraoxadodécane Triglyme Ansul éther 161	178,2	0,986	1 ppm = 7,29 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,14 ppm
TetraEGME	23783-42-8	Tétraéthylène glycol méthyl éther 3,6,9,12-Tétraoxatridécane-1-ol	208,25		1 ppm = 8,52 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,12 ppm
EGEE	110-80-5	Éthylène glycol éthyl éther 2-Ethoxyéthanol Ethylglycol Cellosolve Ethylcellosolve Dowanol	90,12	0,931	1 ppm = 3,69 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,27 ppm
EGEEA	111-15-9	Éthylène glycol éthyl éther acétate Ethylglycol acétate 2-Ethoxyéthanol acétate Cellosolve acétate	132,16	0,975	1 ppm = 5,40 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,185 ppm
EGDEE	629-14-1	Éthylène glycol diéthyl éther 1, 2-Diéthoxyéthane Diéthylglycol 3, 6-Dioxaoctane Ethyl glyme Diéthyl cellosolve	118,2	0,848	1 ppm = 4,83 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,21 ppm
DEGEE	111-90-0	Diéthylène glycol éthyl éther 2-(2-Ethoxyéthoxy)éthanol 3, 6-Dioxaocétan-1-ol Carbitol Carbitol cellosolve Solvosol Transcutol	134,2	0,989	1 ppm = 5,49 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,18 ppm
DEGEEA	112-15-2	Diéthylène glycol éthyl éther acétate 2-(2-Ethoxyéthoxy)éthyl acétate Ethoxydiglycol acétate 3, 6-Dioxaocetyl acétate Carbitol acétate	176,2	1,011	1 ppm = 7,2 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,14 ppm

Éthers de glycol	N°CAS	Synonymes	Poids moléculaire	Densité	ppm* → mg/m ³	mg/m ³ → ppm
DEGDEE	112-36-7	Diéthylène glycol diéthyl éther Bis(2-Ethoxyéthyl)éther 1-Ethoxy-2-(bêta-éthoxy) éthane 3, 6, 9-Trioxaundécane Diéthylcarbitol	162,2	0,907	1 ppm = 6,63 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,15 ppm
TEGEE	112-50-5	Triéthylène glycol éthyl éther 2-(2-(2-Ethoxyéthoxy) éthoxy)-éthanol 3, 6, 9-Trioxaundécane-1-ol Ethoxytriéthylène glycol Triglycol monoéthyl éther Ethoxytriglycol Dowanol TE	178,2	1,018	1 ppm = 7,29 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,14 ppm
EGiPE	109-59-1	Éthylène glycol isopropyl éther 2-Isopropoxyéthanol Isopropylglycol Isopropylxitol Isopropyl cellosolve	104,15	0,903	1 ppm = 4,26 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,23 ppm
EGnPE	2807-30-9	Éthylène glycol n-propyl éther 2-Propoxyéthanol n-Propyl oxitol Propyl cellosolve	104,15	0,911	1 ppm = 4,26 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,23 ppm
EGnPEA	20706-25-6	Éthylène glycol n-propyl éther acétate 2-Propoxyéthyl acétate Éthanol 2-propoxy-acétate	146,21		1 ppm = 5,98 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,17 ppm
DEGnPE	6881-94-3	Diéthylène glycol n-propyl éther 2-(2-propoxyéthoxy)éthanol	148,2		1 ppm = 6,06 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,165 ppm
EGBE	111-76-2	Éthylène glycol n-butyl éther 2-Butoxyéthanol Butylglycol Butyl cellosolve Dowanol EB	118,20	0,901	1 ppm = 4,83 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,21 ppm
EGBEA	112-07-2	Éthylène glycol n-butyl éther acétate 2-Butoxyéthanol acétate Butylglycol acétate Butyl cellosolve acétate	160,24	0,942	1 ppm = 6,55 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,15 ppm
EGDBE	112-48-1	Éthylène glycol butyl éther 1,2-Dibutoxyéthane Dibutylxitol Dibutyl cellosolve	174,28		1 ppm = 7,13 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,14 ppm

Éthers de glycol

Éthers de glycol	N°CAS	Synonymes	Poids moléculaire	Densité	ppm* → mg/m ³	mg/m ³ → ppm
DEGBE	112-34-5	Diéthylène glycol butyl éther 2-(2-Butoxyéthoxy)éthanol Butoxydiglycol Butyldioxytol Butyl carbitol Dowanol DB	162,2	0,953	1 ppm = 6,63 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,15 ppm
DEGBEA	124-17-4	Diéthylène glycol butyl éther acétate 2-(2-Butoxyéthoxy)éthyl acétate Butyl carbitol acétate	204,3	0,985	1 ppm = 8,36 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,12 ppm
TEGBE	143-22-6	Triéthylène glycol n-butyl éther 2-(2-(2-Butoxyéthoxy)éthoxy)éthanol Butoxytriéthylène glycol 3, 6, 9-trioxatridécane-1-ol Dowanol TBAT	206,3	0,989	1 ppm = 8,44 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,12 ppm
TetraEGBE	1559-34-8	Tétraéthylène glycol butyl éther 3,6,9,12-Tétraoxahexadécane-1-ol	250,332		1 ppm = 10,24 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,098 ppm
EGtertBE	7580-85-0	Éthylène glycol tert-butyl éther 2-(1,1-Diméthyléthoxy)éthanol 2-tert-Butoxyéthanol	118,175		1 ppm = 4,83 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,17 ppm
EGHE	112-25-4	Éthylène glycol hexyl éther 2-(hexyloxy)-éthanol	146,2		1 ppm = 5,98 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,17 ppm
DEGHE	112-59-4	Diéthylène glycol hexyl éther 2-(2-Hexyloxyéthoxy)éthanol 3, 6-Dioxadodécane-1-ol Hexyl carbitol	190,3		1 ppm = 7,78 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,13 ppm
EGPhE	122-99-6	Éthylène glycol phényl éther 2-Phénoxyéthanol 1-hydroxy-2-phénoxyéthane Phényl cellosolve Phényl monoglycoléther Dowanol ep	138,2	1,102	1 ppm = 5,65 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,18 ppm

Éthers de glycol	N°CAS	Synonymes	Poids moléculaire	Densité	ppm* → mg/m ³	mg/m ³ → ppm
2PG1ME	107-98-2	2-Propylène glycol 1-méthyl éther 1-Méthoxy-2-hydroxypropane 1-Méthoxy 2-propanol Méthoxypropanol (isomère alpha) Dowanol-33b Dowanol PM Dowtherm 209 Propasol solvent m Ucar solvent 1m	90,1	0,924	1 ppm = 3,68 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,27 ppm
2PG1MEA	108-65-6	2-Propylène glycol 1-méthyl éther acétate 2-propanol, 1-méthoxy-acétate 1-Méthoxy-2-acétoxypropane Dowanol(R) PMA glycol éther acétate	132,2	0,969	1 ppm = 5,4 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,185 ppm
1PG2ME	1589-47-5	1-Propylène glycol 2-méthyl éther 2-Méthoxypropan-1-ol	90,1		1 ppm = 3,68 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,27 ppm
1PG2MEA	70657-70-4	1-Propylène glycol 2-méthyl éther 1-acétate 2-Méthoxy-1-acétoxypropane 2-Méthoxypropyl-1-acétate	132,2		1 ppm = 3,68 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,18 ppm
PGDME	7778-85-0	Propylène glycol diméthyl éther 1, 2-Diméthoxypropane	104,1		1 ppm = 4,26 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,23 ppm
DPGME	34590-94-8	Dipropylène glycol méthyl éther bis-(2-Méthoxypropyl) éther Dowanol DPM Arcosolve DPM PPG-2-méthyl éther	148,2		1 ppm = 6,06 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,16 ppm
DPGMEA	88917-22-0	Dipropylène glycol méthyl éther acétate Dowanol DPMA glycol éther Arcosolve DPMA acétate	190,24		1 ppm = 7,78 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,13 ppm
DPGDME	111109-77-4	Dipropylène glycol diméthyl éther	162,2		1 ppm = 6,63 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,15 ppm
TPGME	25498-49-1	Tripropylène glycol méthyl éther (mélange d'isomères)	206,3		1 ppm = 8,44 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,12 ppm

Éthers de glycol

Éthers de glycol	N°CAS	Synonymes	Poids moléculaire	Densité	ppm* → mg/m ³	mg/m ³ → ppm
2PG1EE	1569-02-4	2-Propylène glycol 1-éthyl éther 1-Ethoxy-2-Propanol	104,2	0,896	1 ppm = 4,26 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,23 ppm
2PG1EEA	54839-24-6	2-Propylène glycol 1-éthyl éther 2-acétate 1-Ethoxy-2-acétoxypropanol 1-Ethoxy-2-propanol acétate	146,2		1 ppm = 5,98 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,17 ppm
PGDEE	10221-57-5	Propylène glycol diéthyl éther Propane, 1,2-diethoxy-				
DPGEE	15764-24-6	Dipropylène glycol éthyl éther Propanol, (2 éthoxy-méthyléthoxy)	162,2		1 ppm = 6,63 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,15 ppm
2PG1nPE PGPE	1569-01-03	Propylène glycol n-propyl éther 2-Propanol, 1-propoxy	118,2	0,8886	1 ppm = 4,915 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,2035 ppm
DPGnPE	29911-27-1	Dipropylène glycol n-propyl éther 1(1-Méthoxy-propoxyéthoxy)-2-propanol	176,3		1 ppm = 7,329 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,136 ppm
TPGnPE	96077-04-2	Dowanol® TPnP glycol éther Propanol, 1(or 2)-(méthyl-2-(méthyl-2-propoxyéthoxy)éthoxy)-				
2PG1BE	5131-66-8 29387-86-8	2-Propylène glycol 1-n-butyl éther (mélange d'isomères) 1-Butoxy-2-propanol 3-Butoxypropan-2-ol	132,2		1 ppm = 5,41 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,18 ppm
PGiBE 2PG1tBE 1PG2tBE	57018-52-7	Propylène glycol t-butyl éther 1-tert-butoxy-2-propanol 1-(1,1-diméthyléthoxy)-propan-2-ol Arcosolve PTB	132,2		1 ppm = 5,41 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,18 ppm
DPGnBE	29911-28-2	Dipropylène glycol n-butyl éther 2-Propanol, 1-(2-butoxy-1-méthyléthoxy)	190,281		1 ppm = 7,78 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,13 ppm
TPGBE	55934-93-5	Tripropylène glycol mono n-butyl éther ((Butoxyméthyléthoxy)méthyléthoxy)propan-1-ol Propanol, (2-(2-butoxy méthyléthoxy)méthyléthoxy)	248,4	0,930	1 ppm = 10,326 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,097 ppm

Éthers de glycol	N°CAS	Synonymes	Poids moléculaire	Densité	ppm* → mg/m ³	mg/m ³ → ppm
DPGtBE	132739-31-2	Dipropylène glycol mono tert-butyl éther Propanol, (2-(1,1-diméthyléthoxy)méthyléthoxy)	190,281		1 ppm = 7,911 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,126 ppm
2PG1PhE	770-35-4	2-Propylène glycol 1-phényl éther 1-Phénoxy-2-propanol 1-Phénoxypropan-2-ol Propylènephénoxythol	152,2	1,051	1 ppm = 6,22 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,16 ppm
1PG2PhE	4169-04-4	1-Propylène glycol 2-phényl éther 2-Phénoxypropanol 1- Propanol, 2-phénoxy- Phénoxyisopropanol	152,19		1 ppm = 6,22 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,16 ppm
PGPhE	41593-38-8 (mélange isomères)	Propylène glycol phényl éther 1(ou 2)-Phénoxypropanol				
1PG3ME	1589-49-7	1-Propylène glycol 3-méthyl éther 3-Méthoxy-1-propanol 1-Propanol, 3-méthoxy- bêta-PGME	90,121		1 ppm = 3,69 mg/m ³	1 mg/m ³ = 0,27 ppm

* Les gaz sont convertis de volume (parties par millions ou ppm) en masse (mg/m³) en utilisant la loi des gaz parfaits (PV = nRT). Pour une exposition à 25°C et sous une pression atmosphérique de 760 mm Hg, valeur en ppm x masse molaire/24,45 = valeur en mg/m³ ; valeur en mg/m³ x 24,45/masse molaire=valeur en ppm.

