

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 1^{er} juillet 2014

AVIS **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,** **de l'environnement et du travail**

relatif à l'élaboration d'une VTR cancérogène par inhalation pour
le benzène
n° CAS 71-43-2

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont rendus publics.

L'Anses s'est autosaisie le 30 mars 2009 en vue d'élaborer une valeur toxicologique de référence (VTR) pour les effets cancérogènes par inhalation du benzène (N° CAS : 71-43-2).

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Depuis 2004, l'Anses poursuit des travaux d'élaboration de valeurs toxicologiques de référence (VTR) accompagnés de développements méthodologiques. Les expertises ont porté d'abord et prioritairement sur les substances chimiques reprotoxiques, puis à partir de 2007 sur les substances chimiques cancérogènes. C'est dans ce contexte, qu'une méthode de construction de VTR cancérogènes a été mise en œuvre dans le cadre d'une phase pilote lancée en 2008. Le benzène, le cadmium, l'éthanol, le naphthalène et le chlorure de vinyle ont été sélectionnés comme substances d'étude dans le cadre de cette phase pilote. A l'issue de cette phase pilote, les VTR cancérogènes proposées pour ces substances ont été soumises pour validation au Comité d'experts spécialisés « Evaluation des risques liés aux substances chimiques ». Le présent avis est relatif aux VTR du benzène.

Une VTR est une appellation générique regroupant tous les types d'indice toxicologique qui permettent d'établir une relation entre une dose et un effet (toxique à seuil d'effet) ou entre une dose et une probabilité d'effet (toxique sans seuil d'effet). Les VTR sont spécifiques d'une durée d'exposition (aiguë, subchronique ou chronique), d'une voie d'exposition (orale ou respiratoire) et d'un type d'effet (reprotoxique, cancérogène,...). La construction des VTR diffère en fonction des connaissances ou des hypothèses formulées sur les mécanismes d'action des substances.

On parle de VTR « à seuil de dose » pour les substances qui provoquent, au-delà d'une certaine dose, des dommages dont la gravité est proportionnelle à la dose absorbée et de VTR « sans seuil

de dose », pour les substances pour lesquelles il existe une probabilité, même infime, qu'une seule molécule pénétrant dans l'organisme provoque des effets néfastes pour cet organisme.

En pratique, la construction de la VTR comprend les étapes suivantes :

- analyse de données disponibles,
- choix de l'effet critique,
- identification de l'hypothèse de construction, à seuil ou sans seuil de dose, en fonction du mode d'action de la substance,
- choix d'une étude de bonne qualité scientifique permettant d'établir une relation dose-réponse,
- choix ou construction d'une dose critique à partir des doses expérimentales et/ou des données épidémiologiques ; éventuellement dans le cas d'une dose critique obtenue sur l'animal, ajuster cette dose à l'Homme,
- application de facteurs d'incertitude à la dose critique pour tenir compte des incertitudes pour les VTR à seuil ou une extrapolation linéaire à l'origine à partir de la dose critique pour les VTR sans seuil.

L'élaboration des VTR suit une approche très structurée et exigeante qui implique des évaluations collectives s'appuyant sur le jugement d'experts (Afsset, 2010).

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise relève du domaine de compétences du CES « Evaluation des risques liés aux substances chimiques ». L'Anses a confié l'expertise au groupe de travail « Valeurs Toxicologiques de Référence II ». Les travaux ont été présentés au CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques les 12 septembre et 10 octobre 2013. Ils ont été adoptés par le CES « Evaluation des risques liés aux substances chimiques » réuni le 10 octobre 2013.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques *via* le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

Il existe de nombreuses données dans la littérature scientifique sur la toxicité du benzène chez l'Homme. L'ensemble des études permettant de caractériser le profil toxicologique de cette substance provient d'études conduites chez l'Homme comme chez l'animal.

Cancérogénicité du benzène

Les données épidémiologiques disponibles à ce jour sont suffisantes pour établir l'existence d'une relation de cause à effet entre l'exposition de l'Homme au benzène et l'apparition de cancers. Le benzène est reconnu comme substance **cancérogène pour l'Homme** par les différents

organismes internationaux ayant évalué sa toxicité (CIRC, 2012 ; Santé Canada, 2007 ; US EPA¹, 2003, ...). Santé Canada et le RIVM² ont classé le benzène dans le groupe I « cancérigène pour l'Homme », l'US EPA dans le groupe A « cancérigène connu chez l'Homme », le CIRC³ dans le groupe 1 « cancérigène pour l'Homme » (preuves suffisantes chez l'animal et chez l'Homme), la Commission européenne dans le groupe cancérigène de catégorie 1A (H 350) « Substance que l'on sait être cancérigène pour l'Homme ».

Génotoxicité du benzène

Le benzène est métabolisé au niveau hépatique *via* les cytochromes P450E1 et CYP2F1 en phénol, hydroquinone et catéchol. Les intermédiaires de transformation (aldéhyde muconique) après ouverture du noyau benzénique peuvent également donner de l'acide trans-trans-muconique. Les métabolites du benzène jouent un rôle prépondérant dans l'apparition des effets toxiques et cancérigènes. En effet, les données disponibles montrent que les métabolites du benzène possèdent une action génotoxique directe.

Le benzène est considéré comme un agent clastogène et aneugène chez l'Homme, provoquant de l'aneuploïdie, de la polyploïdie, la formation de micronoyaux ainsi que des délétions, des translocations et des réarrangements chromosomiques (Santé Canada, 2007). La plupart des études cytogénétiques, dans lesquelles les lymphocytes sanguins de travailleurs exposés qui ont été étudiés par les experts, mettent en évidence un nombre accru d'aberrations chromosomiques structurales (cassures des chromatides et/ou des chromosomes) et/ou numériques dans les lymphocytes périphériques stimulés par les mitogènes. Les études *in vitro* et *in vivo* confirment, les effets clastogènes du benzène.

Des aberrations chromosomiques sont régulièrement retrouvées dans les cellules de moelle osseuse de personnes professionnellement exposées au benzène. Ces aberrations chromosomiques seraient à l'origine des leucémies observées chez les personnes exposées au benzène. L'augmentation significative des échanges de chromatides sœurs dans des cellules de moelle osseuse et dans les lymphocytes d'animaux exposés au benzène, constitue une preuve supplémentaire du potentiel génotoxique du benzène.

Par ailleurs, on a observé que l'exposition au benzène chez l'Homme entraînait des types d'aberrations chromosomiques présentes dans certaines leucémies, tels que la leucémie myéloïde aiguë et les syndromes myélodysplasiques (Smith et Zhang, 1998 ; CIRC, 2012).

Dans sa monographie du benzène réactualisée, le CIRC détaille les mécanismes d'action génotoxique impliqués pour chaque type de leucémie (CIRC, 2012). Concernant la leucémie aiguë myéloïde, les deux mécanismes d'action majoritaires sont :

- des cassures au niveau du centromère, provoquant des aberrations chromosomiques dites déséquilibrées (perte de parties de chromosomes sur le bras long ou de la totalité d'un chromosome (5q-/-5 ou 7q-/-7)). Ce même type d'aberration est observé après les thérapies par des agents alkylants qui sont des composés génotoxiques directs sans seuil de dose ;
- l'inhibition des topoisomérase II, provoquant des aberrations chromosomiques dites équilibrées par des translocations ou inversions de chromosomes non homologues (t(21q22), t(15 ;17) et inv(16)).

¹ US EPA : US Environmental Protection Agency

² RIVM : Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (Institut national néerlandais pour la santé publique et l'environnement)

³ CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer

Elaboration d'une VTR sans seuil pour les effets cancérigènes

Choix de l'hypothèse de construction

L'Anses retient le fait que le benzène et ses métabolites produisent des effets génotoxiques (aberrations chromosomiques, mutations géniques,...) dont une partie (aberrations chromosomiques dites déséquilibrées) possède une relation dose-réponse sans seuil.

Selon l'arbre décisionnel proposé par le guide méthodologique « Méthode de construction de valeurs toxicologiques de référence pour les substances chimiques cancérigènes » (Afsset, 2010), même si le mécanisme de l'effet cancérigène n'est pas entièrement élucidé, l'un des modes d'action de cette substance (et/ou de ses métabolites), à savoir la production d'aberrations chromosomiques dites déséquilibrées conduit, à retenir l'**hypothèse d'absence de seuil**.

Choix de l'effet critique

Les études épidémiologiques fournissent des preuves significatives d'une association causale entre l'exposition au benzène et certaines leucémies (leucémie myéloblastique aigüe, leucémie aigüe lymphoblastique et leucémie myéloïde chronique).

L'Anses retient donc comme effet critique l'augmentation de l'incidence des leucémies.

Choix de l'étude clé

Rinsky *et al.* (1981, 1987) ont été les premiers à réaliser dans trois installations de l'Ohio (USA) des études détaillées sur une cohorte qui comprenait 748 travailleurs masculins ayant été exposés au benzène de 1940 à 1949, dans le cadre de leur travail, et ayant été suivis jusqu'à fin 1981.

La cohorte « Pliofilm » de l'Ohio constitue une base de données valable pour l'évaluation du risque de cancer chez l'Homme découlant d'une exposition au benzène. En effet, cette cohorte est celle qui a été le moins exposée en milieu de travail à d'autres substances potentiellement cancérigènes qui pourraient influencer sur l'analyse du risque associé au benzène. De plus, les travailleurs de « Pliofilm » ont été exposés à un plus grand éventail de concentrations estimées de benzène que les travailleurs impliqués dans d'autres études de cohortes.

Richardson (Richardson, 2008) a ré-analysé les données de la cohorte « Pliofilm » telles qu'elles ont été définitivement établies en 1996 par Rinsky *et al.* (Rinsky *et al.*, 2002). Les expositions à chaque poste de travail, chaque année et pour chaque usine sont issues de cette publication (Rinsky *et al.*, 2002). L'exposition annuelle est calculée par Richardson en multipliant la durée d'emploi dans un poste par la concentration d'exposition à ce poste. Pour chaque employé, l'exposition cumulée est obtenue en additionnant les expositions annuelles pendant toute la durée de son emploi dans l'usine. L'objectif de l'étude était d'analyser les variations du risque de leucémie en fonction de l'âge auquel commence l'exposition et en fonction de la durée entre le dernier jour d'exposition et l'apparition de la maladie.

Ainsi pour une exposition cumulée de 10 ppm-années au benzène, dans les 10 ans suivant la fin de l'exposition, l'excès de risque (RR) était de 1,19 avec un intervalle de confiance à 95% (IC_{95%}) compris entre 1,10 et 1,29.

L'auteur précise que le faible nombre de leucémies (n = 17) ne permet pas une analyse par type de leucémie et que l'utilisation de données de mortalité ne permet pas de voir si le benzène influence l'incidence de la maladie ou le pronostic (réduction de la durée de vie).

Calcul de la VTR

La VTR cancérigène du benzène correspond à l'excès de risque unitaire (ERU) qui est égal au risque relatif moins 1 divisé par le niveau d'exposition et le facteur de conversion (de ppm-année en $\mu\text{g.m}^{-3}$ avec le coefficient expliqué ci dessous).

L'ERU est donc obtenu selon la formule suivante :

$$\text{ERU} = \frac{\text{RR}_{/\text{ppm-année}} - 1}{\text{Facteur de conversion} \times \text{exposition}_{(\text{ppm-année en } \mu\text{g.m}^{-3})}}$$

Avec :

- RR : Limite supérieure de l'intervalle de confiance du risque relatif calculé par l'auteur (Richardson, 2008), soit 1,29
- Facteur de conversion : 1 ppm de benzène en exposition professionnelle est égale à $1,096 \text{ mg.m}^{-3}$ de benzène en exposition continue
- Exposition associée au RR en ppm soit 10 ppm- années

La VTR par voie respiratoire pour les effets cancérigènes du benzène est de $2,6 \cdot 10^{-5} (\mu\text{g.m}^{-3})^{-1}$.

Niveau de confiance : Fort

- Choix de l'effet critique : niveau de confiance fort (études épidémiologiques de bonne qualité scientifique ; effets cohérents avec les études toxicologiques),
- Qualité de l'étude clé : niveau de confiance fort (cette étude correspond aux critères de sélection pour la dérivation d'une VTR. Elle fournit des relations dose réponse pour les excès de risques présentés)
- Choix de la dose critique : niveau de confiance fort
- Construction de la VTR : niveau de confiance fort

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions et recommandations du CES « Évaluation des risques liés aux substances chimiques » qui portent sur l'élaboration de valeurs toxicologiques de référence par inhalation pour le benzène.

Effet critique et étude source	Méthode de construction	VTR
Leucémies aiguës Richardson (2008)	$IC_{95\%}RR_{10 \text{ ppm-année}} = 1,29$ Limite supérieure de l'intervalle de confiance de la fonction exposition-risque calculée par Richardson	$ERU = 2,6 \cdot 10^{-5} (\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3})^{-1}$ $0,038 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ pour un risque de 10^{-6} $0,38 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ pour un risque de 10^{-5} $3,8 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ pour un risque de 10^{-4} Niveau de confiance : FORT

Par ailleurs, l'Agence recommande, au regard des nouvelles études disponibles sur la cohorte « Pliofilm », de revoir la valeur guide air intérieure ou VGAI « vie entière » (actuellement fixée à $2 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ pour un risque de 10^{-5})

L'Anses a été saisie le 3 février 2012 par le ministère chargé du travail pour réévaluer la valeur moyenne d'exposition (VME) sur 8 heures pour le benzène ($3,25 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$) et de proposer le cas échéant, de nouvelles valeurs d'exposition en milieu professionnel basées sur des considérations sanitaires pour le benzène.

Marc Mortureux

MOTS-CLES

Benzène, valeur toxicologique de référence, inhalation, cancer

BIBLIOGRAPHIE

- Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (Afsset) (2010) Valeurs toxicologiques de référence (VTR) pour les substances cancérigènes. Méthode de construction de VTR fondées sur des effets cancérigènes. Saisine n° 2004/AS16. (Afsset, Maisons-Alfort) 107p.
- Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) (2012) Benzene. Chemical Agents and related occupations. Volume 100F. A review of human carcinogens. p249-294 (CIRC, Lyon) Disponible sur <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100F/mono100F-24.pdf>
- Eastmond DA, Rupa DS, Hasegawa LS. (1994) Detection of hyperdiploidy and chromosome breakage in interphase human lymphocytes following exposure to the benzene metabolite hydroquinone using multicolor fluorescence in situ hybridization with DNA probes. *Mutat Res.* 1994 ;322(1):9-20
- Richardson DB. (2008) Temporal variation in the association between benzene and leukemia mortality. *Environ Health Perspect.* 2008 ;116(3):370-4.
- Rinsky RA, Hornung RW, Silver SR, Tseng CY. (2002) Benzene exposure and hematopoietic mortality: A long-term epidemiologic risk assessment. *Am J Ind Med.* 2002 ;42(6):474-80.
- RIVM (National Institut of Public Health and The Environment) (2001) Re-evaluation of human toxicological maximum permissible risk level. RIVM report 711701 025. (RVIM, Bilthoven) 68p. Disponible sur <http://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/711701025.pdf>
- Santé Canada (2007) Le benzène dans l'eau potable. Document de consultation publique. (Gouvernement du Canada, Environnement Canada, Santé et Bien-être social Canada, Ottawa).
- Smith MT, Zhang L. (1998) Biomarkers of leukemia risk: benzene as a model. *Environ Health Perspect.* 1998 ;106 Suppl 4:937-46.
- Stillman WS, Varella-Garcia M, Gruntmeir JJ, Irons RD. (1997) The benzene metabolite, hydroquinone, induces dose-dependent hypoploidy in a human cell line. *Leukemia.* 1997 ;11(9):1540-5.
- US Environmental Protection Agency (US EPA) (2003) Integrated Risk Information System: Benzene (CASRN 71-43-2). (US EPA, Washington) Disponible sur <http://www.epa.gov/iris/subst/0276.htm>
- Zhang B. (1996) (Investigation of health status in workers exposed to low-level benzene). *Zhonghua Zhang L, Rothman N, Wang Y, Hayes RB, Bechtold W, Venkatesh P, et al. (1996b) Interphase cytogenetics of workers exposed to benzene. Environ Health Perspect.* 1996 ;104 Suppl 6:1325-9.
- Zhang L, Rothman N, Wang Y, Hayes RB, Li G, Dosemeci M, et al. (1998a) Increased aneusomy and long arm deletion of chromosomes 5 and 7 in the lymphocytes of Chinese workers exposed to benzene. *Carcinogenesis.* 1998 ;19(11):1955-61.
- Zhang L, Wang Y, Shang N, Smith MT. (1998b) Benzene metabolites induce the loss and long arm deletion of chromosomes 5 and 7 in human lymphocytes. *Leuk Res.* 1998 ;22(2):105-13.

Valeur toxicologique de référence par voie respiratoire pour le benzène

(N°CAS 71-43-2)

Mission permanente
Saisine « n°2009-SA-0346 »

RAPPORT d'expertise collective

Comité d'experts spécialisés « Evaluation des risques liés aux substances
chimiques »

Groupe de travail « Valeurs toxicologiques de référence II »

Novembre 2013

Mots clés

Valeur toxicologique de référence, VTR, benzène, cancer, chronique, inhalation, sans seuil, seuil, modélisation

Présentation des intervenants

PREAMBULE : Les experts externes, membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

COMITE D'EXPERTS SPECIALISE

Les travaux, objets du présent rapport ont été suivis et adoptés par le CES suivant :

- Evaluation des risques liés aux substances chimiques – 12 septembre et 10 octobre 2013

Président

M. Michel GUERBET – Professeur de toxicologie à l'UFR médecine pharmacie de Rouen - Pharmacien toxicologue

Vice-président

Mme Béatrice LAUBY-SECRETAN – Docteur en toxicologie, Scientifique pour monographies du CIRC – groupe IMO, CIRC/ OMS

Membres

M. Luc BELZUNCES – Directeur de Recherche - Laboratoire de Toxicologie Environnementale, UR 406 A&E, INRA

M. Damien BOURGEOIS – Chargé de Recherche – Institut de Chimie Séparative de Marcoule - CNRS

Mme Corinne CASSIER-CHAUVAT – Directrice de Recherche DR2 CNRS – iBiTecS/SBIGeM/LBI, unité mixte CEA-CNRS URA 2096

Mme Anne CHEVALIER – épidémiologiste retraitée - InVS

M. Pascal EMPEREUR-BISSONNET - Médecin, responsable de l'unité « Populations, Risques, Territoires » - Département Santé Environnement, InVS

Mme Brigitte ENRIQUEZ – Enseignant chercheur (Pr) Pharmacie – toxicologie / Responsable de la pharmacie centrale – Unité de Pharmacie Toxicologie, ENVA

Mme Dominique GUENOT – Chargée de recherche - CNRS

M. Cong Khanh HUYNH – Docteur es Sciences - Ingénieur chimiste – Institut universitaire Romand de Santé au Travail

M. Dominique LAFON – Médecin toxicologue, pilote de la thématique reproduction et travail– INRS

Mme Dominique LAGADIC-GOSSMANN – Directrice de Recherche CNRS – EA 4427 SeRAIC / IRSET, Université Rennes 1

Mme Annie LAUDET - Pharmacien toxicologue retraitée – INRS

Mme Florence MÉNÉTRIER – Responsable de l'unité Prositon / Pharmacien – DSV/Prositon, CEA

M. Fabrice MICHIELS – Médecin du travail, toxicologue – Service de santé des armées

Mme Odette PRAT - Chercheur Biologiste Toxicologue / Responsable Toxicogénomique - Institut de Biologie Environnementale et de Biotechnologie / DSV/ CEA

M. Henri SCHROEDER – Enseignant chercheur / Pharmacien biologiste – URAFPA, INRA USC 340, Faculté des Sciences et Technologies, Nancy université

GROUPE DE TRAVAIL « VALEURS TOXICOLOGIQUES DE REFERENCE II »

Président

M. Dominique LAFON – Médecin toxicologue, pilote de la thématique reproduction et travail – INRS

Membres

Mme Fatiha EL-GHISSASSi – Docteur es science en biochimie, spécialiste en cancérogénèse et génotoxicité - Centre International de Recherche sur le Cancer

M. Michel FALCY – Médecin toxicologue - Institut National de Recherche et de Sécurité

Mme Cécile KAIRO – Pharmacien, évaluateur de risque - Institut de veille sanitaire

M. Bernard LEBLANC – Vétérinaire toxicologue, anatomopathologiste - Novosafe

M. Ludovic LEHEGARAT – Toxicologue, génotoxicité - Anses, Fougères

Mme Bette MEEK – Toxicologue - Université d'Ottawa, Canada

M. Jean-Ulrich MULLOT – Pharmacien toxicologue - Service de santé des Armées

M. Mostafa OULD-ELKHIM – Toxicologue - Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM)

M. Alain-Claude ROUDOT – Enseignant chercheur, statistiques et modélisation - Université de Bretagne occidentale

M. Paul TOSSA – Médecin toxicologue, épidémiologie - EDF, service des études médicales

Mme Maria Pilar VINARDELL – Pharmacien toxicologue - Université de Barcelone

RAPPORTEURS

M. Alain-Claude ROUDOT – Université de Brest

PARTICIPATION ANSES

Coordination et contribution scientifiques

M. Laurent BODIN – Toxicologue - Anses
Mme Cécilia SOLAL – Toxicologue – Anses
Mme Aurélie MATHIEU-HUART– Toxicologue – Anses

Secrétariat administratif

Mme Séverine BOIX - Anses

CONTRIBUTIONS EXTERIEURES AU(X) COLLECTIF(S)

Prestataire extérieure au groupe de travail : Vincent NEDELLEC.

SOMMAIRE

Présentation des intervenants.....	3
Sigles et abréviations	8
Liste des tableaux.....	9
1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine.....	10
1.1 Contexte	10
1.2 Objet de la saisine	10
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre	11
2 Effet cancérigène du benzène	12
3 Recensement des VTR existantes	12
3.1 VTR à seuil pour la voie respiratoire	12
3.2 VTR sans seuil pour la voie respiratoire	12
3.2.1 VTR de l'OEHHA (2005).....	15
3.2.2 VTR de l'US EPA (2003)	18
3.2.3 VTR du RIVM (2001)	21
3.2.4 VTR de l'OMS (2000)	23
3.2.5 VTR de la CE (1998)	24
4 Construction d'une VTR pour les effets cancérigènes du benzène	26
4.1 Choix de l'effet critique.....	26
4.2 Mécanismes d'actions génotoxiques	26
4.3 Choix de l'étude clé.....	28
4.3.1 Études disponibles pour élaborer une VTR.....	28
4.3.2 Etude retenue	37
4.4 Calcul de la VTR	37
4.5 Proposition de VTR	39
5 Conclusion.....	39
6 Addendum	41

7	Bibliographie	41
	Annexe 1 : Liens mentionnés dans les déclarations publiques d'intérêts des experts	46
	Annexe 2 : Extraits du rapport Vincent Nedellec Conseil	63
	Annexe 3 : Analyse critique des équations mathématiques utilisées par les différents organismes dans la construction des VTR cancérogènes du benzène à partir d'études épidémiologiques	103

Sigles et abréviations

AND	Acide DésoxyriboNucléique
Afsset	Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail
ANLL	leucémies aiguës non lymphoïdes
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
BMD/C	Benchmark dose/concentration
BMDxLy	Limite inférieure de l'intervalle de confiance à y% de la benchmark concentration associée à x%
BMR	Benchmark response level
CE	Commission Européenne
CES	Comité d'Experts Spécialisés
CR _{inhal}	Concentration correspondant à un excès de risque de cancer de 1.10^{-4}
CIRC	Centre International de Recherche sur le Cancer
COV	Composé Organique Volatil
CYP	Cytochrome P450
IC _{95%}	Intervalle de confiance à 95%
ER	Excès de risque
ERU	Excès de risque unitaire
LAM	Leucémie Aigue Myéloïde
LMS	Linear multistage (modèle multi-étapes linéarisé)
LOAEL/C	Lowest observed adverse effect level/concentration
DMT	Dose maximale tolérée (Maximal tolerated dose)
NOAEL/C	No observed adverse effect level/concentration
NTP	National Toxicology Program
OEHHA	Office of Environmental Health Hazard Assessment
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OR	Odd ratio
RIVM	Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (Institut national hollandais pour la santé publique et l'environnement)
RR	Risque Relatif
SIR	Ratio d'incidence standardisé
SMR	Ratio de mortalité standardisé
TC ₀₅	Concentration correspondant à une augmentation de 5% de l'incidence des cancers ou des décès par cancer
UF	Uncertainty factor (= facteur d'incertitude)
UF _A	Facteur d'incertitude inter-espèces
UF _D	Facteur d'incertitude au manque de données
UF _H	Facteur d'incertitude interindividuel
UF _L	Facteur d'incertitude lié à l'utilisation d'un LOAEL ou d'une BMD
UF _S	Facteur d'incertitude lié à la transposition subchronique à chronique
US EPA	United States Environmental Protection Agency
VTR	Valeur toxicologique de référence

Liste des tableaux

Tableau I : Synthèse des VTR à seuil pour la voie respiratoire	13
Tableau II : Synthèse des VTR sans seuil pour la voie respiratoire	14
Tableau III : VTR cancérogène de l'OEHHA (OEHHA, 2005).....	15
Tableau IV : VTR de l'OEHHA (OEHHA, 2005)	17
Tableau V : Reconstitution des valeurs utilisées pour aboutir à la VTR de l'OEHHA.....	18
Tableau VI : VTR cancérogène de l'US EPA (US EPA, 2003)	18
Tableau VII: VTR cancérogène du RIVM (RIVM, 2001)	21
Tableau VIII : Concentration en benzène pour un risque de cancer de 10^{-4} (RIVM, 2001).....	22
Tableau IX : VTR cancérogène de l'OMS (OMS, 2000)	23
Tableau X : VTR cancérogène de la Commission Européenne (CE, 1998).....	24
Tableau XI : Synthèse des résultats d'études sélectionnées pour la construction d'une VTR pour les effets cancérogènes du benzène.....	35
Tableau XII : ERU calculés.....	38
Tableau XIII : VTR établie par l'Anses pour le benzène	39
Tableau XIV : Identification de la substance	64
Tableau XV : Propriétés chimiques	65
Tableau XVI : Exposition humaine	67
Tableau XVII : Toxicocinétique.....	69
Tableau XVIII : Données humaines sur les effets hématologiques liés à une exposition à un niveau faible de benzène	76
Tableau XIX : Résumé des études de toxicité à doses répétées – Effets hématologiques.....	82
Tableau XX : Etudes de génotoxicité <i>in vitro</i> chez les bactéries, champignons et plasmides recensées par l'ATSDR en 2007	96
Tableau XXI : Etudes <i>in vitro</i> sur des lignées cellulaires animales et humaines recensées par l'ATSDR en 2007	97
Tableau XXII : Etude <i>in vivo</i> chez l'invertébré, l'animal et l'Homme recensées par l'ATSDR en 2007	99

1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine

1.1 Contexte

Dans le cadre du Plan National Santé Environnement 1 (2004-2008) et du Plan Cancer (2003-2007), l'Anses a engagé en 2004 une action spécifique relative au développement de valeurs toxicologiques de référence (VTR) et à l'amélioration de l'expertise française dans ce domaine. L'Anses a ainsi proposé à ses partenaires scientifiques, conformément à ses missions, d'établir un programme national sur les VTR en abordant, dans un premier temps, les substances chimiques reprotoxiques. Un premier rapport sur la méthode de construction de VTR fondées sur des effets toxiques pour la reproduction et le développement a été publié en 2007.

Cette démarche a ensuite été étendue au domaine des substances chimiques cancérigènes qui a abouti à l'élaboration d'une première version de la méthode de construction de VTR fondées sur des effets cancérigènes en 2007. Une phase pilote a ensuite été conduite : le document a été soumis à une étude de faisabilité visant à mettre en pratique la méthode de construction proposée sur 6 substances cancérigènes (éthanol, chlorure de vinyle, benzène, naphthalène, cadmium et composés et toxines de *Fusarium moniliforme* (fumonisine B1)). Des équipes prestataires extérieures au groupe de travail ont été sélectionnées sur la base d'un appel d'offres lancé par l'Anses en 2007.

L'agence s'est proposée de valider les VTR cancérigènes les plus abouties construites lors cette phase pilote dans le cadre de l'expertise collective de l'Anses. Le benzène fait l'objet du présent rapport.

1.2 Objet de la saisine

Le benzène fait partie des substances pilotes ayant permis de tester la faisabilité de la méthode de construction de VTR cancérigènes élaborée par l'ex-Afsset (Afsset, 2010). Cette substance avait été retenue car on disposait de nombreuses données chez l'Homme et ses effets cancérigènes chez l'animal et chez l'Homme étaient confirmés.

Sur la base du rapport fourni par le prestataire sélectionné pour le benzène, la conformité de la méthode employée par rapport aux préconisations du document méthodologique de l'ex-Afsset a été évaluée sur les points suivants (Afsset, 2010) : i) recherche d'informations, ii) profil toxicologique en vue de sélectionner l'effet critique, l'étude clé et le mode d'action cancérigène retenu (à seuil ou sans seuil de dose), iii) construction de la VTR cancérigène (dose critique, facteurs d'incertitude ou extrapolation aux faibles doses).

Un travail complémentaire de recherche bibliographique et de modélisation a été réalisé afin de proposer une VTR cancérigène pour cette substance.

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre

L'Anses a confié la validation de la VTR du benzène au Comité d'Experts Spécialisés (CES) « Evaluation des risques liés aux substances chimiques ».

Le groupe de travail « Valeurs toxicologiques de référence II » a été mandaté pour expertiser le rapport du prestataire « VNC conseil » et la construction d'une VTR cancérogène pour le benzène. Des extraits du rapport du prestataire sont mis en annexe de ce document (annexe 2). Un rapporteur du groupe de travail « VTR II » a été nommé pour une analyse critique des équations mathématiques utilisées par les différents organismes dans la construction des VTR cancérogènes du benzène à partir d'études épidémiologiques (rapport en annexe 3).

Le rapport tient compte de l'ensemble des observations et éléments transmis par les membres du CES et du groupe de travail.

Ces travaux d'expertise sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires. Ils ont été réalisés dans le respect de la norme NF X 50-110 « qualité en expertise » avec pour objectif de respecter les points suivants : compétence, indépendance, transparence, traçabilité.

2 Effet cancérogène du benzène

Le benzène est unanimement reconnu cancérogène par les différents organismes internationaux ayant publié des rapports sur sa toxicité (CIRC, 2012 ; Santé Canada, 2007 ; US EPA, 2003 ; RIVM, 2001 ; CE, 1998). Santé Canada et le RIVM ont classé le benzène dans le groupe I « cancérogène pour l'Homme », l'US EPA dans le groupe A « cancérogène connu chez l'Homme », le CIRC dans le groupe 1 : « cancérogène pour l'Homme » (preuves suffisantes chez l'animal et chez l'Homme), la Commission Européenne dans le groupe cancérogène de catégorie 1A (H 350)¹.

3 Recensement des VTR existantes

3.1 VTR à seuil pour la voie respiratoire

Les VTR à seuil pour la voie respiratoire établies par les différents organismes sont synthétisées dans le Tableau I.

3.2 VTR sans seuil pour la voie respiratoire

Les VTR sans seuil pour la voie respiratoire établies par les différents organismes sont synthétisées dans le Tableau II.

¹ Substance que l'on sait être cancérogène pour l'Homme. On dispose de suffisamment d'éléments, dans les données épidémiologiques, pour établir l'existence d'une relation de cause à effet entre l'exposition de l'Homme à de telles substances et l'apparition de cancers.

Tableau I : Synthèse des VTR à seuil pour la voie respiratoire

Organisme (année)	VTR	Effet	Etude clé	Espèces testée, voie et durée d'exposition du protocole	Dose critique	Facteurs d'incertitude et/ou remarque
ATSDR (2007)	0,003 ppm	Diminution du nombre de lymphocyte	Lan <i>et al.</i> , 2004	Travailleurs exposés en moyenne 6,1 années	BMCL _(0,25sd) = 0,03 ppm	UF _H = 10
OEHHA (2005)	60 µg.m ⁻³	Effets hématologiques	Tsai <i>et al.</i> , 1983	Travailleurs exposés en moyenne 7,4 ans	NOAEC = 0,19 ppm (600 µg.m ⁻³)	UF _H = 10
US EPA (2003)	30 µg.m ⁻³	Diminution du nombre de lymphocytes	Rothman <i>et al.</i> , 1996	Travailleurs exposés en moyenne 6,3 ans	BMC = 8 200 µg.m ⁻³	300 UF _H = 10 UF _L = 3 (utilisation d'une BMC) UF _S = 3* UF _D = 3
RIVM (2001)	20 µg.m ⁻³	Leucémie	Rinsky <i>et al.</i> , 1987	Travailleurs exposés de 1 à 14 ans	CR _{inhal} = 20 µg.m ⁻³	CR _{inhal} : concentration correspondant à un excès de risque de cancer de 1.10 ⁻⁴
Santé Canada (1993)	15 µg.m ⁻³	Leucémie	Rinsky <i>et al.</i> , 1987	Travailleurs exposés de 1 à 14 ans	TC ₀₅ = 15 µg.m ⁻³	TC ₀₅ : concentration correspondant à une augmentation de 5% de l'incidence des cancers ou des décès par cancer.

* L'US EPA considère que l'exposition est subchronique lorsqu'elle fait moins de 1/10 de l'espérance de vie humaine (70/10 = 7 ans)

Tableau II : Synthèse des VTR sans seuil pour la voie respiratoire

Organisme (année)	VTR ($\mu\text{g.m}^{-3}\text{.}^{-1}$)	Effet	Durée d'exposition	Etude clé	Population, voie et durée d'exposition	Modèles utilisés
OEHHA (2005)	$2,9.10^{-5}$	tumeurs	Chronique	NTP, 1983 : souris F et M Maltony, 1983 : rat F Infante, 1984 : HAskoy <i>et al.</i> , 1974-76-77: H Ott <i>et al.</i> , 1978 : H	Travailleurs (industrie caoutchouc) exposés par voie respiratoire de 1 à 14 ans	Exposition cumulée moyenne des risques relatifs (CDHS, 1984)
US EPA (2003)	$2,2 \text{ à } 7,8.10^{-6}$	Leucémie	Chronique	Rinsky <i>et al.</i> , 1981 et 1987	Travailleurs (industrie caoutchouc) exposés par voie respiratoire de 1 à 14 ans	Modèle linéaire aux faibles doses (Postenbach 1992 ; Crump, 1994)
RIVM (2001)	5.10^{-6}	Leucémie	Chronique	Cf. VTR CE	Travailleurs (industrie caoutchouc) exposés par voie respiratoire	?
OMS (2000)	$4,4 \text{ à } 7,5.10^{-6}$	Leucémie	Chronique	Rinsky <i>et al.</i> , 1981 et 1987 ;; Crump, 1994	Travailleurs exposés par voie respiratoire	Modèle linéaire aux faibles doses (Crump, 1994)
CE (1998)	$5.10^{-8} \text{ à } 5.10^{-6}$	Leucémie	Chronique	Wong et Raabe, 1995 Rinsky <i>et al.</i> , 1981 et 1987	Travailleurs exposés par voie respiratoire	?

H= Homme ; F = femelle ; M = mâle

3.2.1 VTR de l'OEHHA (2005)

L'OEHHA a élaboré une VTR cancérogène sans seuil de $2,9 \cdot 10^{-5} (\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3})^{-1}$ (Tableau III) (OEHHA, 2005).

Tableau III : VTR cancérogène de l'OEHHA (OEHHA, 2005)

Organisme (date d'actualisation de la VTR)	Effet critique (étude clé)	Méthode d'élaboration	VTR
OEHHA (décembre 2002)	Tumeurs (glandes de Zymbal, prépuce, lymphomes ou leucémie et mamelle) (NTP, 1983 ; Maltoni <i>et al.</i> , 1983) et 4 études épidémiologiques (Aksoy <i>et al.</i> 1974, 1976 et 1977 ; Ott <i>et al.</i> 1978 ; Rinsky <i>et al.</i> 1981 ; Infante <i>et al.</i> 1983)	Moyenne des 12 relations dose-réponse	ERU = $2,9 \cdot 10^{-5} (\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3})^{-1}$

L'excès de risques unitaires (ERU) a été calculé selon la méthode de l'exposition moyenne cumulée rapporté au risque relatif (CDHS, 1984 cité dans OEHHA, 2005). La procédure du CDHS implique l'utilisation et le mélange de données, issues d'expérimentations animales et d'études épidémiologiques humaines, pour dériver une relation dose-réponse de cancer sans seuil. Dans le cas du benzène, les résultats de 2 études animales (NTP, 1983 ; Maltoni *et al.*, 1983) et 4 études épidémiologiques (Aksoy *et al.*, 1974, 1976 et 1977 ; Ott *et al.*, 1978 ; Rinsky *et al.*, 1981 ; Infante *et al.* 1984) ont été utilisés.

Parmi les études sur l'animal, celles qui ont été sélectionnées datent après 1982 puisque celles antérieures à 1983 ne montraient pas d'effet cancérogène (OEHHA, 2005). Les données issues des expérimentations animales sont dérivées individuellement en relation dose-réponse de cancers avec le modèle « Multi Etapes Linéarisées » de l'US EPA. Deux calculs sont fait pour chaque type de cancer : le taux d'incidence brut (« crude attack rate ») et le taux d'incidence standardisé sur l'espérance de vie (« lifetable adjusted rate »). Pour chaque relation dose-réponse obtenue, l'OEHHA retient la valeur de la borne supérieure de l'intervalle de confiance à 95%. Dans l'étude du NTP (chez la souris mâle et femelle par gavage), l'OEHHA retient 4 types de cancers différents : les glandes de Zymbal, le prépuce, les lymphomes ou leucémies et la mamelle. A partir de cette étude, on obtient 8 valeurs de relations dose-réponse de cancer. Dans l'étude de Maltoni *et al.* (rat femelle par gavage), l'OEHHA retient un site de cancer : les glandes de Zymbal. Il en découle une seule valeur de relation dose-réponse de cancer.

Les 4 études épidémiologiques ont été sélectionnées dans un ensemble de 23 études datées de 1974 à 1983. Les critères ayant conduit à cette sélection ne sont pas précisés

dans le document source de l'OEHHA. On ne sait pas non plus pour quelle raison les études épidémiologiques publiées entre 1983 et 2002 (date du rapport de l'OEHHA) ne sont pas incluses dans la synthèse. Les données des 4 études retenues sont dérivées individuellement au moyen d'un modèle linéaire sans seuil. Les 5 études épidémiologiques sont des cohortes de travailleurs exposés au benzène par inhalation, dans l'industrie de la chaussure (Aksoy *et al.*, 1974, 1976, 1977), dans l'industrie du caoutchouc hydrochlorate (« Pliofilm study »), Infante *et al.* (1977) et Rinsky *et al.* (1981). Chacune des 4 études donne une relation dose-réponse de cancer pour les leucémies.

Au final, la VTR de l'OEHHA est la moyenne des 12 relations dose-réponse (exposition risque pour les études épidémiologiques) de cancers obtenues à partir des études expérimentales et épidémiologiques (Tableau V). Cette VTR mélange donc des données animales et humaines, des expositions par inhalation et par gavage, deux méthodes de dérivation des relations dose-réponse de cancers et 6 sites de cancers différents.

Tableau IV : VTR de l'OEHHA (OEHHA, 2005)

Etude	Voie d'exposition	LifetimeTWA Dosage	Tumor Type	Species	Sex	Type of Analysis	Multi-Stage Model for Human Equivalent Cancer Risk/ppb Benzene
NTP (1983)	Gavage	17,9 mg/kgday ^b	Zymbal gland carcinomas	Mouse	M	Crude Attack Rate Lifetable Adj. Rate	MLE: 7,4.10 ⁻⁶ 95% UCL: 34.10 ⁻⁶ MLE: 6.9.10 ⁻⁶ 95% UCL: 47.10 ⁻⁶
NTP (1983)	Gavage	17,9 mg/kgday ^b	Preputial gland carcinomas	Mouse	M	Crude Attack Rate Lifetable Adj. Rate	MLE 78.10 ⁻⁶ 95% UCL 170.10 ⁻⁶ MLE 140.10 ⁻⁶ 95% UCL 340.10 ⁻⁶
NTP (1983)	Gavage	17,9 mg/kgday ^b	Lymphoma ou Leukemia	Mouse	M	Crude Attack Rate Lifetable Adj. Rate	MLE 49.10 ⁻⁶ 95% UCL 81.10 ⁻⁶ MLE 170.10 ⁻⁶ 95% UCL 230.10 ⁻⁶
NTP (1983)	Gavage	17,9 mg/kgday ^b	Mammary carcinomas	Mouse	M	Crude Attack Rate Lifetable Adj. Rate	MLE 32.10 ⁻⁶ 95% UCL 57.10 ⁻⁶ MLE 61.10 ⁻⁶ 95% UCL 92.10 ⁻⁶
Maltoni <i>et al.</i> , 1983	Gavage	13,9 mg/kgday	Zymbal gland carcinomas	Rat	F	Crude Attack Rate	MLE 26.10 ⁻⁶ 95% UCL 42.10 ⁻⁶
Maltoni <i>et al.</i> , 1983	Inhalation ^d	16,45 mg/kg-day ^e	Zymbal gland carcinomas	Rat	F, M	Crude Attack Rate	MLE 6,4.10 ⁻⁶ 95% UCL 12.10 ⁻⁶
Infante <i>et al.</i> , 1977	Inhalation	2,81 ppm ^f (2.99 mg/kgday)	Leukemia (Myelocytic ou Monocytic)	Human	M	Fatal Tumor Life Table	15.10 ⁻⁶
Rinsky <i>et al.</i> , 1981	Inhalation	2,81 ppmf (2.99 mg/kgday)	Leukemia (Myelocytic ou Monocytic)	Human	M	Fatal Tumor Life Table	48.10 ⁻⁶
Askoy <i>et al.</i> , 1974, 1976, 1977	Inhalation	4,22 ppmf (4.49 mg/kgday)	Leukemia	Human	M	Fatal Tumor	20.10 ⁻⁶
Ott <i>et al.</i> , 1978	Inhalation	0.171 ppm ^f (0.182 mg/kg.day)	Leukemia	Human	M	Fatal Tumor	46.10 ⁻⁶

Assumptions: 60 kg person, human inhalation at 20 m³/day. MLE = Maximum likelihood estimate. 95% UCL = 95% upper confidence limit on risk for provided dose.

^a Dosages provided without scaling factors.

^b Lowest dose used in three dose risk assessment, Cochran-Armitage linear trend test for these tumors: preputial gland, $p < 0.001$; Zymbal gland, $p < 0.001$; lymphoma ou leukemia, $p = 0.035$; mammary carcinoma, $p < 0.001$.

^c Lowest dose used in two point risk assessment, Cochran-Armitage linear trend test for these tumors, $p < 0.001$.

^d Pregnant Sprague-Dawley rats from the twelfth day of pregnancy at a concentration of 200 ppm, 4 hours/day, 5 days/week to delivery, then offspring assumed to be exposed to 200-300 ppm 4-7 hours/day, 5 days/week for 104 weeks. Exposure *in utero* not calculated for total lifetime dosage.

^e Provided for comparative purposes.

^f Estimated lifetime dosage by the US EPA-CAG (US EPA, 1979)

Tableau V : Reconstitution des valeurs utilisées pour aboutir à la VTR de l'OEHHA

Etude Espèce - sexe	Exposition	Lifetime TWA (mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹)	Site de cancer/type	Relations dose-réponse	
				(ppb) ⁻¹	(µg.m ⁻³) ⁻¹
NTP, 1983 Souris M	gavage	17,9	Glande de Zymbal	3,40.10 ⁻⁵	1,05.10 ⁻⁵
				4,70.10 ⁻⁵	1,45.10 ⁻⁵
NTP, 1983 Souris M	gavage	17,9	Prépuce	1,70.10 ⁻⁴	5,23.10 ⁻⁵
				3,40.10 ⁻⁴	1,05.10 ⁻⁴
NTP, 1983 Souris M	gavage	17,9	Lymphome ou Leucémie	8,10.10 ⁻⁵	2,49.10 ⁻⁵
				2,30.10 ⁻⁴	7,08.10 ⁻⁵
NTP, 1983 Souris F	gavage	17,9	Mamelle	5,70.10 ⁻⁵	1,75.10 ⁻⁵
				9,20.10 ⁻⁵	2,83.10 ⁻⁵
Maltoni <i>et al.</i> , 1983 Rat F	gavage	13,9	Glande de Zymbal	4,20.10 ⁻⁵	1,29.10 ⁻⁵
Infante <i>et al.</i> , 1977 Homme	inhalation	2,99	Leucémie	1,50.10 ⁻⁵	4,62.10 ⁻⁶
Rinsky <i>et al.</i> , 1981 Homme	inhalation	2,99	Leucémie	4,80.10 ⁻⁵	1,48.10 ⁻⁵
Askoy <i>et al.</i> 1974, 76 et 77 Homme	inhalation	4,49	Leucémie	2,00.10 ⁻⁵	6,15.10 ⁻⁵
Ott <i>et al.</i> , 1978 Homme	inhalation	0,182	Leucémie	4,60.10 ⁻⁵	1,42.10 ⁻⁵
VTR de l'OEHHA					2,9.10⁻⁵
VTR calculée avec seulement les données humaines pour les leucémies					9,9.10 ⁻⁶
VTR calculée avec seulement les données animales pour tous types de cancers					4,0.10 ⁻⁵

M = mâle ; F = femelle

La conversion des mg.kg⁻¹.j⁻¹ en µm.m⁻³ fait par l'OEHHA utilise un poids corporel de 60 kg et un débit respiratoire de 20 m³.j⁻¹.

3.2.2 VTR de l'US EPA (2003)

L'US EPA a élaboré une VTR cancérigène sans seuil de 2,2.10⁻⁶ à 7,8.10⁻⁶ (µg.m⁻³)⁻¹ (Tableau VI) (US EPA, 2003).

Tableau VI : VTR cancérigène de l'US EPA (US EPA, 2003)

Organisme (date d'actualisation de la VTR)	Effet critique (étude clé)	Méthode d'élaboration	VTR
US EPA (2003)	Leucémies (Rinsky <i>et al.</i> , 1981 et 1987)	Extrapolation linéaire aux faibles doses	2,2.10⁻⁶ à 7,8.10⁻⁶ (µg.m⁻³)⁻¹

L'étude publiée par Rinsky *et al.* en 1981 est une extension de l'étude publiée par Infante *et al.* en 1977 (cohorte rétrospective des travailleurs de l'industrie du caoutchouc hydrochlorate « Pliofilm study »). Après avoir obtenu 98% des informations concernant le statut vital des travailleurs de la cohorte et suivi les personnes jusqu'en 1975, Rinsky *et al.* (1981) trouvent 7 morts par leucémie (le même nombre qu'Infante *et al.*) et 40 autres décès pour toutes les

autres causes. Le risque de décès par leucémie reste significatif (SMR = 560, $p < 0,001$). Dans cette cohorte, 437 personnes ont été exposées moins d'un an. Pour les personnes exposées plus de 5 ans, le SMR est de 2100 (5 leucémies observées contre 0,25 attendues, $p < 0,01$). Les 7 leucémies étaient de type myéloïde. Quatre autres cas de leucémies dans la cohorte ont été exclus car ils ne remplissaient pas les critères d'inclusion. Les auteurs ont essayé de reconstruire les expositions dans cette industrie mais, à l'exception de quelques zones fortement exposées, le reste des travailleurs étaient en dessous des limites d'exposition professionnelle de cette époque. Il n'y a pas d'analyse dose dépendante dans l'étude.

En 1987, les données de cette cohorte ont été incrémentées : 2 cas supplémentaires de leucémies, 98,6% des statuts vitaux sont maintenant connus. Le suivi est prolongé jusqu'en 1981 pour les 1165 employés ayant travaillé au moins un jour dans l'une des deux usines « Pliofilm ». Les excès de risques de leucémie restent significatifs (9 cas observés pour 2,7 cas attendus, $p < 0,05$). Pour la première fois, les expositions moyennes cumulées au benzène ont pu être reconstruites à partir des données de surveillance de la qualité de l'air dans l'usine. Les SMR pour la leucémie vont de 109 (2 cas observés, 1,83 attendus, non significatif) pour une exposition moyenne annuelle cumulée de 40 ppm, (soit 130 mg.m⁻³) à 2339 (5 cas observés, 0,21 attendus ; $p < 0,05$) pour une exposition moyenne annuelle cumulée de 200 ppm (soit 650 mg.m⁻³). Les auteurs trouvent par extrapolation un excès de risque significatif pour une exposition de 40 ans à 10 ppm qui était la valeur limite d'exposition professionnelle au benzène aux USA (soit 32,5 mg.m⁻³).

Les résultats de cette étude ont été retenus comme données de bases pour dériver la VTR car les experts de l'US EPA ont estimé que cette cohorte avait suffisamment de puissance statistique, un suivi assez long (exposition jusqu'en 1965, suivi jusqu'en 1981), une bonne estimation de l'exposition, peu de facteurs de confusion et une large étendue de niveau d'exposition cumulée. Les limites sont la petite taille de la cohorte, l'absence de calcul des excès de risque en fonction du type de leucémie et une difficulté pour estimer les excès de risque pour les expositions inférieures à 200 ppm.

En 1998, lorsque l'US EPA a dérivé cette VTR, d'autres études épidémiologiques étaient disponibles (Hayes, 1997 ; Hayes, 1996 ; Rushton, 1997a ; Rushton, 1997b ; Schnatter, 1996c ; Schnatter, 1996b ; Schnatter, 1996a ; Raabe, 1996 ; Utterback, 1995 ; Paustenbach, 1993 ; Ward, 1996 ; Wong, 1995a ; Wong, 1995b ; Paxton, 1994b ; Paxton, 1994a ; Dosemeci, 1994 ; Yin, 1987a ; Yin, 1987b ; Yin, 1989 ; Yin, 1994 ; Yin, 1996a ; Yin, 1996b ; Kipen, 1989). Elles sont présentées en détails dans le document source de l'US EPA. L'expertise de ces études a montré qu'elles n'étaient pas utilisables pour dériver une VTR en raison de problèmes méthodologiques importants, notamment des expositions concomitantes à d'autres produits toxiques et un manque de puissance statistique. Les experts notent cependant que toutes ces limites ne sont pas suffisantes pour expliquer les augmentations de risques observées dans ces études. Elles ont été analysées par d'autres

comités d'experts internationaux (CIRC et ATSDR) qui ont conclu que ces études fournissaient les preuves d'une relation causale entre l'exposition au benzène et les leucémies aiguës myéloblastiques. Ces preuves sont moins clairement établies pour les leucémies myéloblastiques chroniques et les leucémies lymphoïdes chroniques.

De plus, l'US EPA considère que la cohorte chinoise conduite entre l'Académie chinoise de Médecine Préventive (Chine), le National Cancer Institut (USA) et le National Institut of Health (USA), pourrait fournir des données encore plus appropriées pour dériver une VTR que celles de la cohorte « Pliofilm » en raison du très grand nombre de travailleurs inclus dans cette étude. Mais pour l'instant les données publiées ne permettent pas d'éliminer l'existence d'expositions concomitantes à d'autres cancérogènes sur le lieu de travail et les données quantitatives sur l'exposition ne concernent que 3% des personnels inclus dans la cohorte (75 000 travailleurs exposés au benzène dans 692 usines : peinture, imprimerie, chaussures, caoutchouc, chimie et autres). Ces deux limites ont conduit l'US EPA à choisir les données de la cohorte « Pliofilm » en attendant de meilleures données en provenance de Chine.

En 1994, Crump a publié 96 valeurs d'excès risque unitaire² (ERU) de cancers issues des données de la cohorte « Pliofilm » (Rinsky *et al.*, 1981 et 1987, Crump, 1994). Ces 96 ERU ont été obtenus en faisant varier plusieurs paramètres :

- Différents types de cancers considérés,
- Utilisation d'un modèle additif ou un modèle multiplicatif,
- Relation dose-réponse de forme linéaire ou non à faible dose (modèle d'extrapolation haute dose/ basse dose).

Deux estimations des expositions dans la cohorte « Pliofilm » ont été réalisées, celle de Crump versus celle de Paustenbach *et al.* (Paustenbach *et al.*, 1993).

Les ERU obtenus par Crump en 1994 s'étendent de $8,6 \cdot 10^{-5}$ à $2,5 \cdot 10^{-2}$ ppm⁻¹, soit $2,6 \cdot 10^{-8}$ à $7,8 \cdot 10^{-6}$ (µg.m⁻³)⁻¹. Selon l'US EPA, les deux facteurs ayant la plus grande influence sur la valeur de l'ERU sont la forme de la relation exposition / risque à faible dose et la méthode d'estimation des expositions (Crump 1994 versus Paustenbach *et al.*, 1993). En revanche, le type de leucémie (myéloïde ou monocyte) modifie la valeur de l'ERU que de 20%. Concernant la forme de la relation exposition-risque, l'US EPA estimait en 1998 que les connaissances sur les mécanismes d'actions biologiques du benzène ne permettaient pas de trancher définitivement la question. Toutefois, selon l'US EPA, Hayes *et al.* en 1997 (Hayes *et al.*, 1997) a montré que les anomalies chromosomiques apparaissent chez l'Homme exposé à moins de 10 ppm alors que la formation de métabolites toxiques plafonne au-dessus de 25 ppm. Il est donc vraisemblable que la forme de la relation à faible dose soit

² L'excès de risque unitaire est la relation quantitative entre une unité d'exposition (par exemple le ppm) et l'excès de risques (exprimé dans les études épidémiologique par un RR, un OU, un SMR ou SIR)

supra linéaire mais les preuves faisant défaut, l'utilisation d'un modèle linéaire est l'approche la plus satisfaisante.

Partant de cette hypothèse sur la forme de la relation exposition-risque à faible dose, les ERU de type linéaire donnés par Crump s'étendent de $2,2 \cdot 10^{-6}$ à $7,8 \cdot 10^{-6}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$)⁻¹. La valeur la plus faible dérive des expositions estimées par Postenbach *et al.* pour la cohorte « Pliofilm » et la plus forte dérive des expositions estimées par Crump (1984). Les niveaux d'exposition cumulée estimées par Postenbach *et al.* (1993) sont supérieurs à ceux estimés par Crump (1984), le taux d'incidence de cancers étant identique, le facteur de pente (ERU) de la relation exposition risque est plus faible. L'US EPA précise que la valeur supérieure de l'ERU est si proche de l'ERU dérivé en 1985 ($8,1 \cdot 10^{-6}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$)⁻¹) qu'aucune différence ne peut être faite concernant l'utilisation de l'une ou l'autre des deux valeurs.

3.2.3 VTR du RIVM (2001)

En 2001, le RIVM a publié un rapport sur la construction de VTR orale et respiratoire avec ou sans seuil pour une cinquantaine de polluants des sols, dans lequel un chapitre est consacré au benzène (RIVM, 2001). Le benzène est un cancérigène chez le rat et la souris produisant des tumeurs malignes sur de nombreux sites, après inhalation ou ingestion. Le benzène est un cancérigène pour l'Homme bien établi, il a été classé dans le groupe 1 par le CIRC (CIRC, 2012). Les études épidémiologiques et les études de cas fournissent des preuves claires d'une relation causale entre l'exposition au benzène et les leucémies, la leucémie myéloïde aiguë en particulier, et dans une moindre mesure des leucémies non lymphoblastiques chroniques, des leucémies lymphoblastiques et des myélomes multiples.

Tableau VII: VTR cancérigène du RIVM (RIVM, 2001)

Organisme (date d'actualisation de la VTR)	Effet critique (étude clé)	Méthode d'élaboration	VTR
RIVM (2001)	Leucémie (Commission Européenne, basée sur Rinsky <i>et al.</i> 1987)	Extrapolation linéaire (cf. Commission Européenne)	$5 \cdot 10^{-6}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$) ⁻¹ A $20 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$, le risque de cancer est de 10^{-4}

La cohorte « Pliofilm » est considérée par le RIVM comme fournissant les meilleures données pour l'évaluation des excès de risques de leucémies chez l'Homme. La plus récente publication de cette cohorte par Rinsky *et al.* (1987) (Rinsky *et al.*, 1987) donne un SMR de 337 pour les leucémies (9 cas observés pour 2,7 attendus) et de 409 pour les myélomes multiples (4 cas observés versus 1 attendu). Une tendance fortement significative est observée entre la mortalité par leucémie et l'augmentation de l'exposition cumulée. Dans les quatre groupes d'exposition cumulée on trouve respectivement 2, 2, 2, 3 décès donnant des SMRs de 109, 322, 1186 et 6637. Selon l'US EPA en 1998, cité par le RIVM, d'autres

études n'ont pas pu confirmer l'augmentation du risque pour les myélomes multiples chez les travailleurs exposés au benzène. La cohorte « Pliofilm » présente l'avantage de n'avoir pas de co-exposition. Il faut cependant rappeler que les expositions dans cette cohorte varient considérablement et que leur estimation est particulièrement incertaine pour la période d'avant 1950.

En 1994, Crump a publié (Crump, 1994) des excès de risques unitaires (ERU)³ à partir de données publiées plus récentes pour la cohorte « Pliofilm » (cf. 3.2.2).

Les ERU estimés par Crump avec le modèle multiplicatif et l'exposition cumulée vont de $4,4 \cdot 10^{-6}$ à $7,5 \cdot 10^{-6}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$)⁻¹. En 1995, pour le Guide Méthodologique pour la Qualité de l'Air, l'OMS a dérivé un ERU de $6 \cdot 10^{-6}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$)⁻¹ correspondant à la moyenne géométrique des ERU de Crump (OMS, 2000).

En 1995, Wong et Raabe ont publié une méta analyse des études américaines et anglaises chez les travailleurs des raffineries de pétrole (208 000 travailleurs) (Wong et Raabe, 1995). Les expositions au benzène y sont beaucoup moins fortes que dans la cohorte « Pliofilm » allant de 0,3 à 3,2 $\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$. Les auteurs concluent qu'il n'y a pas d'augmentation du risque de leucémie à ce niveau d'exposition (exposition moyenne de 0,7 $\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$). Le SMR pour les leucémies aiguës non lymphoïdes est de 96 (148 cas observés contre 155 cas attendus). Il n'y a pas non plus d'augmentation de risques pour les autres types de leucémies.

Le RIVM a transformé les ERU existants (OMS, US EPA et CE) en concentrations pour un risque de cancer de 10^{-4} (Tableau VIII). Les valeurs obtenues étant toutes dans la même gamme, le RIVM a choisi de retenir la valeur basse de la CE. Les valeurs d'ERU calculées par l'US EPA étaient, à l'époque de la rédaction du document du RIVM, provisoires (ce qui n'est plus le cas aujourd'hui) ; ces données ont été exclues. L'ERU de l'OMS publié en 1995 ($6 \cdot 10^{-6}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$)⁻¹) a été arrondi par la CE à la valeur de $5 \cdot 10^{-6}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$)⁻¹. C'est cette valeur, arrondie par la CE, qui est retenue par le RIVM sans vraiment que l'on sache pourquoi ce n'est pas la valeur initiale qui est retenue. La différence entre les deux valeurs n'est pas très grande mais l'explication du choix du RIVM n'est pas donnée.

Tableau VIII : Concentration en benzène pour un risque de cancer de 10^{-4} (RIVM, 2001)

<i>Inhalation excess lifetime cancer risk of 10^{-4}</i>	
OMS (1995)	17 $\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$
EU Working group (1999)	20-36 $\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$
Health Council of the Netherlands (1997)	24 $\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$
US EPA (1998)	13-45 $\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$

³ Un ERU est l'excès de risques vie entière pour une unité de l'agent cancérigène.

3.2.4 VTR de l'OMS (2000)

L'OMS a élaboré une VTR cancérigène sans seuil de $4,4 \cdot 10^{-6}$ à $7,5 \cdot 10^{-6}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$)⁻¹ (Tableau IX) (OMS, 2000).

Tableau IX : VTR cancérigène de l'OMS (OMS, 2000)

Organisme (date d'actualisation de la VTR)	Effet critique Etude clé	Méthode d'élaboration	VTR
OMS (2000)	Leucémies (Rinsky <i>et al.</i> , 1987 et Crump, 1994)	Extrapolation linéaire	$4,4 \cdot 10^{-6}$ à $7,5 \cdot 10^{-6}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$) ⁻¹ (moyenne géo = $6 \cdot 10^{-6}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$) ⁻¹)

La cancérigénicité du benzène a été longuement étudiée chez l'Homme et chez l'animal. Pour l'OMS, les études *in vitro* n'ont pas permis de détecter de mutations géniques mais les expérimentations chez l'animal ou les observations chez l'Homme exposés *in vivo* ont clairement montré l'induction d'aberrations chromosomiques (numériques et structurelles), d'échanges de chromatides sœurs et de micronoyaux. Chez l'Homme, les aberrations chromosomiques ont été observées pour des niveaux d'exposition de 4 à 7 ppm. Pour l'OMS, les données *in vivo* indiquent que le benzène est mutagène.

Un excès de risques (ER) de leucémie a été montré par les études de cohorte de travailleurs. Chez l'animal (souris et rat), les ER portent sur des tumeurs d'origine épithéliale (tissus de revêtement : épiderme, muqueuses...), notamment les glandes de Zymbal, le foie, les glandes mammaires et les cavités nasales. Des lymphomes et des leucémies ont également été observés chez l'animal. Ces résultats indiquent que le benzène est un cancérigène multi-site.

Pour l'OMS, parmi les études épidémiologiques permettant d'instruire cette relation dose-réponse, la cohorte « Pliofilm » est la mieux désignée. Cette appréciation est fondée sur le fait qu'il n'y a pratiquement aucune chance que les travailleurs aient été exposés à d'autres cancérigènes. En revanche, dans cette cohorte les niveaux d'exposition varient considérablement. Au moins trois auteurs ont publié des estimations d'excès de risques dérivant des données de cette cohorte (Crump et Allen 1984 ; Crump, 1994 ; Paxton *et al.*, 1994a et b ; Paustenbach *et al.*, 1992). L'étude de Paustenbach *et al.* diffère de celle de Crump sur la méthode d'estimation des expositions. Paustenbach *et al.* tient compte de l'exposition de fond (hors lieu de travail), de l'exposition cutanée et des pics d'exposition aigus. Selon les postes de travail, les expositions estimées peuvent être 3 à 5 fois supérieures à celles de Crump mais dans certains cas, elles sont inférieures. L'étude de Paxton *et al.* utilise les données des deux auteurs pour une étude cas/témoin nichée dans la cohorte (15 cas 650 témoins). Les excès de cas varient de 0,26 à 1,3 cas de cancers supplémentaires pour 1 000 travailleurs exposés à $3,2 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ pendant 40 ans.

Les modèles d'extrapolation utilisés par ces trois auteurs sont différents. Crump (Crump, 1994) a testé une cinquantaine de combinaisons possibles, il trouve que le modèle multiplicatif (versus additif) et les expositions cumulées (versus moyenne) suivent au plus près les données brutes originales. La meilleure forme de cette relation est linéaire. D'un autre côté, c'est la forme quadratique qui donne les meilleurs résultats si l'on utilise les estimations d'exposition données par Paustenbach *et al.* (Paustenbach *et al.*, 1992). Dans le modèle quadratique, le poids donné à la concentration d'exposition est supérieur à celui donné à la durée de l'exposition. S'il y a de récentes données qui fournissent des mécanismes biologiques sous-jacents, l'hypothèse selon laquelle la relation dose réponse à faible dose est plutôt dose-dépendante que durée-dépendante, ces données sont jugées préliminaires par l'OMS et nécessitent des confirmations ultérieures.

En attendant ces confirmations, l'OMS a choisi le modèle qui donne un poids égal à la concentration et à la durée d'exposition, c'est à dire le modèle linéaire. Selon ce modèle, les excès de risques unitaires établis par Crump (Crump, 1994) à partir des matrices d'exposition de Paustenbach *et al.* vont de $4,4 \cdot 10^{-6}$ à $7,5 \cdot 10^{-6}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$)⁻¹. La moyenne géométrique de ces deux valeurs est, selon l'OMS, de $6 \cdot 10^{-6}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$)⁻¹. C'est la valeur d'excès de risques unitaires retenue par l'OMS.

3.2.5 VTR de la CE (1998)

La Commission Européenne a élaboré une VTR cancérigène sans seuil de $5 \cdot 10^{-8}$ à $5 \cdot 10^{-6}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$)⁻¹ (Tableau X) (CE, 1998).

Tableau X : VTR cancérigène de la Commission Européenne (CE, 1998)

Organisme (date d'actualisation de la VTR)	Effet critique Etude clé	Méthode d'élaboration	VTR
CE (1998)	Leucémies (Rinsky <i>et al.</i> , 1987, Wong et Raabe 1995)	Extrapolation linéaire	$5 \cdot 10^{-8}$ à $5 \cdot 10^{-6}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$) ⁻¹

Un groupe de travail de la Commission Européenne sur le benzène et la qualité de l'air ambiante a rendu ses conclusions et recommandations en 1998 (CE, 1998). Elles sont principalement fondées sur le rapport de l'OMS de 1995 (Air Quality Guidelines) et sur l'analyse de la littérature publiée postérieurement (1995 à 1997). Ce groupe d'expert a conclu que les effets du benzène à faible dose diffèrent quantitativement et qualitativement de ses effets à fortes doses en situation professionnelle. Ce point est fondé sur les résultats de la méta-analyse des études sur les travailleurs des raffineries en Angleterre et aux États-Unis de Wong et Raabe(1995b), qui ne trouvent pas d'excès de risques dans une cohorte combinée de 208 000 travailleurs exposés en moyenne à $0,7 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$.

Les experts de la CE estiment que les mécanismes d'actions cancérigènes du benzène ne sont pas suffisamment connus pour affirmer définitivement qu'ils impliquent une interaction avec l'ADN. Face à cette incertitude, le groupe, par précaution, choisit quand même une méthode d'extrapolation sans seuil, mais affirme qu'il n'est pas possible de donner une estimation de l'excès de risque mais seulement une étendue probable de cette valeur. La forme de la relation dose-réponse n'est pas encore définitivement connue. Selon les travaux de Crump, la forme qui suit le mieux les données de l'étude « Pliofilm » est linéaire, mais selon ceux de Paustenbach *et al.*, elle serait quadratique. Les experts ont développé une argumentation censée prouver que la relation devait être sub-linéaire mais elle est loin d'être convaincante. A partir de l'ERU de l'OMS (dérivé selon un modèle linéaire) appliqué aux données⁴ de la méta-analyse de Wong, ceci donnerait un nombre de cas allant de 36 à 72 alors que Wong trouve 124 à 186 cas (IC_{95%}). Donc, selon cette démonstration il faudrait conclure, contrairement à la conclusion du groupe de travail de la CE, c'est à dire qu'une relation dose-réponse de forme linéaire sous-estime le nombre réel de cas.

Les experts de la CE recommandent d'utiliser l'excès de risque de l'OMS (1996) à $6.10^{-6} (\mu\text{g.m}^{-3})^{-1}$ comme la borne supérieure et la valeur $5.10^{-8} (\mu\text{g.m}^{-3})^{-1}$ comme borne inférieure de l'ERU pour évaluer les risques de cancer liés au benzène dans l'air. On note que la valeur dérivée de l'ERU de l'OMS est arrondie à $0,2 \mu\text{g.m}^{-3}$ au lieu de $0,17 \mu\text{g.m}^{-3}$; cet arrondi est fait pour plus de clarté. Elle serait cohérente avec une valeur dérivée par le Netherlands Health Council en 1997 à partir de l'étude de Wong (Wong, 1995b). Le document source est écrit en néerlandais, il n'a donc pas été possible de comprendre comment cette valeur a été dérivée. Il est toutefois surprenant que l'on puisse dériver un excès de risque à partir d'une étude donnant moins de cas observés que de cas attendus de leucémies myéloïdes aiguës (méta SMR 0,96) (Wong, 1995b).

Les experts du groupe de travail rappellent qu'il existe des incertitudes dans les résultats de Wong. Les expositions au benzène ne sont pas certaines dans plusieurs des cohortes inclus dans la méta-analyse. La qualité des études varie malgré des critères de sélection ayant conduit à l'exclusion de certaines d'entre elles pour défaut de qualité méthodologique.

Pour la valeur supérieure de l'excès de risque, la méthode de dérivation est celle de l'OMS (cf. chapitre 3.2.4). Pour la borne inférieure, les explications n'ont pas été retrouvées.

⁴ Exposition professionnelle moyenne $700 \mu\text{g.m}^{-3}$; pendant 250 j/an et 10 à 20 ans sur 70 ; au débit respiratoire de $10 \text{ m}^3.\text{j}^{-1}$; nombre de personnes exposées 208 000. ERU de l'OMS = $6.10^{-6} (\mu\text{g.m}^{-3})^{-1}$. Soit une exposition moyenne convertie pour la population générale vie entière (70 ans) de 34 à $68 \mu\text{g.m}^{-3}$ ($700 \mu\text{g.m}^{-3} \times 250/365 \times 10/20 \times \{10/70 \text{ ou } 20/70\}$). Multiplié par l'ERU de l'OMS et par le nombre de personnes exposées on trouve 36 à 72 cas = $\{34 \text{ ou } 68 \mu\text{g.m}^{-3}\} \times 5 \times 10^{-6} (\mu\text{g.m}^{-3})^{-1} \times 208 000$. Il faut noter que contrairement aux explications fournies dans le texte, les experts n'utilisent pas la valeur de l'ERU de l'OMS mais une valeur $5 \times 10^{-6} (\mu\text{g.m}^{-3})^{-1}$

4 Construction d'une VTR pour les effets cancérogènes du benzène

4.1 Choix de l'effet critique

Les experts de l'Anses retiennent comme effet critique l'augmentation de l'incidence des leucémies. Les études épidémiologiques fournissent des preuves évidentes d'une association causale entre l'exposition au benzène et certaines leucémies (leucémie myéloblastique aiguë, leucémie aiguë lymphoblastique et leucémie myéloïde chronique).

4.2 Mécanismes d'actions génotoxiques

Des aberrations chromosomiques sont régulièrement retrouvées dans les cellules de moelle osseuse de personnes professionnellement exposées au benzène. La conclusion, basée sur les études épidémiologiques, que le benzène est clastogène chez l'Homme est largement confirmée par les études *in vitro* et *in vivo*.

Ces aberrations chromosomiques seraient à l'origine des leucémies observées chez les personnes exposées au benzène. Une augmentation significative des échanges de chromatides sœurs dans des cellules de moelle osseuse et dans les lymphocytes d'animaux exposés au benzène, serait une preuve supplémentaire du potentiel génotoxique du benzène.

Les données disponibles montrent que ce sont les métabolites du benzène qui possèdent une action génotoxique. Il est possible que chaque métabolite produise ses propres effets ce qui expliqueraient les différences observées dans les résultats des différents tests pratiqués.

Le benzène est métabolisé au niveau du foie *via* les cytochromes P4502E1 (et CYP2F1) en phénol, hydroquinone et catéchol. Les intermédiaires de transformation (aldéhyde muconique) après ouverture du noyau benzénique peuvent également donner de l'acide trans-trans-muconique. Les métabolites du benzène jouent un rôle prépondérant dans l'apparition des effets toxiques et cancérogènes.

Le benzène est considéré comme un agent clastogène et aneugène chez l'Homme, provoquant de l'aneuploïdie, de la polyploïdie, la formation de micronoyaux ainsi que des délétions, des translocations et des réarrangements chromosomiques (Santé Canada, 2007). Dans la plupart des études cytogénétiques, dans lesquelles les lymphocytes sanguins de travailleurs exposés ont été étudiés, et il a été observé un nombre accru d'aberrations chromosomiques structurales (cassures des chromatides et/ou des chromosomes) et/ou numériques dans les lymphocytes périphériques stimulés par les mitogènes.

Par ailleurs, on a observé que l'exposition au benzène chez l'Homme entraînait des types d'aberrations chromosomiques présentes dans certaines leucémies, tels que la leucémie myéloïde aiguë et les syndromes myélodysplasiques (Smith et Zhang, 1998 ; CIRC, 2012). Les aberrations comprennent des gains ou des pertes spécifiques de chromosomes ainsi que des translocations, des délétions et des inversions, pour la plupart situées aux chromosomes 5, 7, 8 9, 21 ou 22. Dans les lymphocytes de travailleurs chinois ayant subi une exposition professionnelle au benzène, on a

remarqué une fréquence plus élevée d'altérations chromosomiques et génomiques particulières telles que l'hyperploïdie du chromosome 9, des translocations entre les chromosomes 8 et 21 et des aneusomies des chromosomes 8 et 21 (Zhang *et al.*, 1996 ; Smith et Zhang, 1998). Des hausses significatives des taux de monosomie pour les chromosomes 5 et 7 ($p < 0,001$ et $p < 0,0001$, respectivement) et des hausses de la fréquence de la trisomie et de la tétrasomie des chromosomes 1, 5, et 7 ont aussi été signalées (Zhang *et al.*, 1998 a,b). Bon nombre de ces anomalies chromosomiques ont aussi été observées *in vitro* dans des lignées cellulaires humaines traitées par des métabolites du benzène. Stillman *et al.* (1997) ont noté des augmentations dose-dépendante de l'aneuploïdie des chromosomes 5 et 7 dans des cellules hématopoïétiques humaines traitées par l'hydroquinone ou le 1,2,4-trihydroxybenzène. L'exposition de lymphocytes humains à l'hydroquinone a entraîné une hyperdiploïdie pour le chromosome 9 (Eastmond *et al.*, 1994).

Dans sa monographie du benzène réactualisée, le CIRC détaille les mécanismes d'action génotoxique impliqués pour chaque type de leucémie (CIRC, 2012). Concernant la leucémie aiguë myéloïde, les deux mécanismes d'action majoritaire sont :

- des cassures au niveau du centromère, provoquant des aberrations chromosomiques dites déséquilibrées (perte de parties de chromosomes sur le bras long ou de la totalité d'un chromosome (5q-/-5 ou 7q-/-7)). Ce même type d'aberration est observé après les thérapies par des agents alkylants qui sont des composés génotoxiques directs sans seuil de dose.
- l'inhibition des topoisomérase II, provoquant des aberrations chromosomiques dites équilibrées par des translocations ou inversions de chromosomes non homologues (t(21q22), t(15 ;17) et inv(16)).

En conclusion, le groupe de travail retient le fait que le benzène et ses métabolites produisent des effets génotoxiques (aberrations chromosomiques, mutations géniques,...) dont une partie possède une relation dose-réponse sans seuil.

Dans la méthode de construction de valeurs toxicologiques de référence pour les substances chimiques cancérigènes de l'ex-Afsset, il a été convenu de regrouper sous le terme de cancérigène génotoxique, toute substance qui altère le matériel génétique comprenant les composés génotoxiques directs (ou primaires) et les composés génotoxiques indirects (ou secondaires) (Afsset, 2010). Un composé cancérigène non génotoxique se définira comme une substance cancérigène qui n'entraîne pas d'altération de la molécule d'ADN (sont inclus dans cette définition les cancérigènes épigénétiques).

4.3 Choix de l'étude clé

4.3.1 Études disponibles pour élaborer une VTR

4.3.1.1 La cohorte « Pliofilm »

La cohorte « Pliofilm » de l'Ohio constitue une base de données valable pour l'évaluation du risque de cancer chez l'Homme découlant d'une exposition au benzène. En effet, cette cohorte est celle qui a été le moins exposée en milieu de travail à d'autres substances potentiellement cancérigènes qui pourraient influencer sur l'analyse du risque associé au benzène. De plus, les travailleurs de « Pliofilm » ont été exposés à un plus grand éventail de concentrations estimées de benzène que les travailleurs impliqués dans d'autres études de cohortes. Rinsky *et al.* (1981, 1987) ont été les premiers à réaliser à des études poussées de cette cohorte, qui comprenait 748 travailleurs masculins dans trois installations de l'Ohio ayant été exposés au benzène de 1940 à 1949 dans le cadre de leur travail et ayant été suivis jusqu'à fin 1981. On a estimé que les concentrations de benzène auxquelles les travailleurs ont été exposés se situaient entre 100 ppm en 1941 et 10 ppm (concentration moyenne pondérée pour une période de 8 heures) en 1949. Une hausse statistiquement significative de la mortalité attribuable à des affections malignes des tissus lymphatiques et hématopoïétiques (SMR = 330 ; $p < 0,01$) a été signalée, dont sept décès par leucémie (SMR = 560 ; $p < 0,001$). Chez les travailleurs exposés pendant plus de 5 ans, le SMR pour la leucémie s'établissait à 2 100. Rinsky *et al.* (1987) ont ultérieurement élargi l'étude de cohortes de l'Ohio de façon à inclure des personnes ayant travaillé au moins une journée par semaine entre 1940 et 1965, le nombre de personnes-années à risque étant calculé à partir de 1950. La cohorte élargie se composait de 1 165 hommes caucasiens suivis jusqu'en 1981. Le suivi a duré 6,5 années de plus que lors de l'étude antérieure et les auteurs ont estimé l'exposition individuelle. La durée de l'emploi et les estimations de l'exposition individuelle durant cette période ont servi à estimer le risque d'après les données groupées. Là encore, une forte tendance positive liée au degré d'exposition au benzène a été observée pour la mortalité par leucémie. Une hausse statistiquement significative a été notée pour tous les cancers des tissus lymphatiques et hématopoïétiques (15 décès) comparativement aux taux attendus dans la population générale (SMR = 227, IC_{95%} = 127-376). Pour ce qui est du nombre total de décès par leucémie (9 décès), le SMR s'élevait à 337 (IC_{95%} = 159-641). Un risque accru de myélome multiple (4 décès) a aussi été enregistré (SMR = 398, IC_{95%} = 110-1 047).

Des analyses effectuées par d'autres auteurs (Paustenbach *et al.*, 1992 ; Paxton *et al.*, 1994a et b ; Crump, et Allen 1984 ; Crump, 1994) ayant prolongé les périodes de suivi et modifié les estimations de l'exposition se sont traduites par des résultats légèrement différents. Cependant, les différences étaient comprises dans le même intervalle d'incertitude.

En 2002, Rinsky *et al.* ont publié une actualisation des données de la cohorte « Pliofilm » avec pour objectif d'examiner l'influence de l'extension de la période de suivi « après exposition » sur les valeurs de l'excès de risque (Rinsky *et al.*, 2002 ; Silver, 2002). Les nouvelles données

comprennent les statuts vitaux de 1 845 employés entre le 1^{er} janvier 1940 et le 31 décembre 1965 (date de la fermeture d'une des deux usines de caoutchouc, la seconde a été fermée en 1976) suivi jusqu'en 1996 (le suivi allait jusqu'en 1981 dans les études précédentes) (Rinsky *et al.*, 1987 ; Paxton *et al.*, 1994a et b ; Paustenbach *et al.*, 1992 et 1993 ; Crump et Allen, 1984 ; Crump, 1994 ; Crump, 1996). Cinq nouveaux cas de décès par leucémie ont été ajoutés, dont 4 cas de myélomes multiples (dont 3 chez des personnes considérées comme non exposées). L'extension de la durée de suivi diminue le SMR de leucémie qui passe de 13,55 (Silver *et al.*, 2002) pour le suivi jusqu'en 1961, à 3,37 (IC_{95%} = 1,54-6,41) pour le suivi jusqu'en 1981 et à 2,56 (IC_{95%} = 1,43-4,22) pour le suivi jusqu'en 1996. Les auteurs concluent que les résultats confirment l'association entre exposition au benzène et augmentation du risque de leucémie, mais que cet excès de risque diminue avec le temps après l'exposition. En raison du fait que l'excès de risque de leucémie diminue après la fin de l'exposition, les valeurs limites d'exposition professionnelles basées sur des excès de risques calculés pour une longue période après l'exposition ne sont pas appropriées pour protéger la santé des travailleurs.

Plus récemment, Richardson (Richardson, 2008) a ré-analysé les données de la cohorte « Pliofilm » telles qu'elles ont été définitivement établies en 1996 par Rinsky *et al.* (Rinsky *et al.*, 2002). Les expositions à chaque poste de travail, chaque année et pour chaque usine sont issues de cette publication (Rinsky *et al.*, 2002). L'exposition annuelle est calculée par Richardson en multipliant la durée d'emploi dans un poste par la concentration d'exposition à ce poste. Pour chaque employé, l'exposition cumulée est obtenue en additionnant les expositions annuelles pendant toute la durée de son emploi dans l'usine. L'objectif de l'étude était d'analyser les variations du risque de leucémie en fonction de l'âge auquel commence l'exposition et en fonction de la durée entre le dernier jour d'exposition et l'apparition de la maladie. Pour une exposition cumulée de 10 ppm-années au benzène, dans les 10 ans suivant la fin de l'exposition l'excès de risque (RR = 1,19 ; IC_{95%} = 1,10-1,29) est supérieur à celui de la période 10 à 20 ans après l'exposition (RR = 1,05 ; IC_{95%} = 0,92-1,09). L'association entre l'exposition au benzène et la survenue de leucémie disparaît 20 ans après l'exposition. Le risque de leucémie est plus fort pour les personnes dont l'exposition commence à l'âge de 45 ans (RR = 1,11 ; IC_{95%} = 1,04-1,17) que pour celles dont l'exposition commence plus tôt (RR = 1,01 ; IC_{95%} = 0,92-1,09). L'auteur précise que le faible nombre de leucémies (n = 17) ne permet pas une analyse par type de leucémie et que l'utilisation de données de mortalité ne permet pas de voir si le benzène influence l'incidence de la maladie ou le pronostic (réduction de la durée de vie). Richardson conclut que si les effets du benzène sont plus marqués chez les personnes âgées et lorsque l'exposition est récente, cela pourrait signifier que le benzène agit sur les dernières phases du processus cancérogène (promotion) et non pas sur la première (initiation).

4.3.1.2 La cohorte des travailleurs chinois CAPM+NCI

Entre 1997 et 2001, Hayes *et al.* ont publié de nouveaux résultats pour la cohorte chinoise CAPM-NCI (Hayes *et al.*, 1997, 2000, 2001). La cohorte comprend 74 828 personnes exposées au benzène et 35 805 non exposées donnant un total de 352 000 personnes années). Pour les personnes exposées en moyenne à 10 ppm, le RR de néoplasmes hématologiques (lymphome

non Hodgkinien, leucémie aiguë myéloblastique, syndrome myélodysplasique et autres leucémies) était de 2,2 ($IC_{95\%} = 1,1-4,2$) et celui de leucémie aiguë myéloblastique plus les syndromes myélodysplasiques associés était de 3,2 ($IC_{95\%} = 1,0-10,1$). Ce dernier augmente jusqu'à 7,1 ($IC_{95\%} = 2,1-23,7$) lorsque l'exposition était constamment égale à 25 ppm ou plus. Les RR pour les lymphomes non hodgkinien ($RR = 4,2$; $IC_{95\%} = 1,1-15,9$) augmentent lorsque l'exposition dure plus de 10 ans (p de tendance = 0,01). Cette relation est plus forte lorsque l'exposition a eu lieu longtemps avant le diagnostic (p de tendance = 0,005). Au contraire, pour les leucémies aiguës myéloblastiques, les RR sont plus forts lorsque l'exposition est proche du diagnostic (p de tendance = 0,003) et la relation disparaît lorsque l'exposition est très ancienne. Les auteurs concluent que ces résultats confirment la relation entre exposition au benzène et excès de risques de néoplasmes hématologiques y compris lorsque l'exposition est inférieure à 10 ppm. La durée de l'exposition et le temps écoulé entre l'arrêt de l'exposition et la maladie influencent la force de l'association de manière contradictoire selon les cancers considérés.

4.3.1.3 L'industrie pétrolière

Une étude de cohorte de travailleurs suédois dans les raffineries et la distribution des carburants a été publiée par Jarvholm *et al.* en 1997. L'incidence des cancers dans cette cohorte comprenant 4 128 hommes et 191 femmes a été comparée à l'incidence nationale. Les cas de cancers ont été identifiés dans le registre national des cancers. La durée moyenne d'emploi était de 11 ans pour les hommes. 146 cas de cancers tous types ont été observés contre 157 attendus ($SMR = 0,93$; $IC_{95\%} = 0,8-1,1$). Seuls les travailleurs des raffineries ont un excès de risques de leucémies, 6 cas observés contre 1,7 attendus ($SMR = 3,5$; $IC_{95\%} = 1,5-7,0$). Les travailleurs dans le transport et la distribution de carburant n'ont aucun excès de risques de cancer. Les auteurs concluent que l'exposition au benzène peut être la cause de l'excès de risques de leucémies observés dans les raffineries (Jarvholm *et al.*, 1997).

En 1997, Lyngé *et al.* ont publié une étude de cohorte avec 19 000 employés de stations-services, au Danemark, en Norvège, en Suède et en Finlande avant l'introduction du libre-service dans les années 70. Sur la base de résultats de mesures publiés dans la littérature, l'exposition moyenne au benzène pondérée sur 8 heures a été évaluée dans une gamme allant de 0,5 à 1 $mg.m^{-3}$. Vingt ans après l'exposition, les auteurs recensent 1 300 cas de décès par cancers. Les taux d'incidence nationaux ont été utilisés pour la comparaison. L'incidence de tout type de leucémies n'est pas augmentée (observé = 28, $SIR = 0,9$, $IC_{95\%} = 0,6-1,3$) ni de la leucémie myéloïde aiguë (observé = 13, $SIR = 1,3$, $IC_{95\%} = 0,7-2,1$). L'incidence des cancers du rein est légèrement augmentée (observée = 57, $SIR = 1,3$, $IC_{95\%} = 1,0-1,7$) ainsi que celle des cancers du larynx, du pharynx et des poumons. Un excès de risque du cancer nasal a été également trouvé (observé = 12, $SIR = 3,5$, $IC_{95\%} = 1,8-6,1$) (Lyngé *et al.*, 1997b).

En 1997, Rushton *et al.* ont publié une étude cas témoins nichée dans une cohorte de travailleurs dans l'industrie et la distribution du pétrole au Royaume-Uni. L'étude comprend 91 cas de décès par leucémie (acte de décès ou registre des cancers). Quatre témoins par cas sont tirés au sort dans la même entreprise et appariés sur l'âge. L'historique d'emploi informe sur le lieu de travail, la

composition des carburants et les mesures de concentration en benzène. Les OR ont été ajustés sur les variables associées au risque de leucémie. L'effet potentiel de ces variables de confusion a été analysé par régression logistique. Les analyses ont été effectuées pour toutes les leucémies et séparément pour la leucémie lymphoblastique aiguë ou chronique, la leucémie myéloïde aiguë et la leucémie myéloïde chronique. Les auteurs ne trouvent aucun excès de risque significatif que ce soit avec l'intensité (exposition cumulative) ou avec la durée d'exposition. Toutefois les risques sont doublés chez les sujets employés depuis plus de 10 ans. L'OR pour la leucémie myéloïde aiguë est 2,8 (IC_{95%} = 0,8 à 9,4) pour une exposition cumulative entre 4,5 et 45 ppm-années comparées avec < 0,45 ppm-années. Pour une intensité d'exposition faible (entre 0,2 et 0,4 ppm), l'OR est de 2,8 (IC_{95%} = 0,9 à 8,5) comparé avec le groupe d'exposition < 0,02 ppm-année. Le risque n'augmente pas avec l'exposition cumulative, l'intensité maximale. Les limitations de l'étude incluent des incertitudes et le manque d'information dans les sous-catégories d'exposition qui peut expliquer l'étendue des IC à 95%. Les auteurs concluent que leurs résultats n'apportent aucune preuve d'une association entre l'exposition au benzène et la leucémie lymphoblastique aiguë ou chronique. Ils suggèrent la possible existence d'une relation entre l'exposition au benzène et la leucémie myéloïde, en particulier la forme aiguë, mais l'évaluation des expositions reste trop incertaine pour être plus affirmatif (Rushton *et al.*, 1997b).

Nilsson *et al.* ont publié en 1998 une étude cas-témoins nichée dans une cohorte de marins travaillant sur des navires de transport de pétrole et produits dérivés. Chez les marins exposés au minimum pendant un mois aux vapeurs des cargaisons, on observe un OR de 3,2 pour les lymphomes, de 4,0 pour les myélomes multiples et de 1,6 pour les leucémies. Ces excès de risques ne sont significatifs que pour les lymphomes non hodgkiniens (OR = 3,3 ; IC_{95%} = 1,1-10,6). Il n'y avait pas d'excès de risques significatifs pour des marins exposés dans des navires-citernes de brut, mais ces groupes avaient peu de cas exposés et l'exposition cumulative au benzène et d'autres produits légers de pétrole relativement basse. Les auteurs concluent qu'une des causes possibles est l'exposition au benzène pendant le chargement, le déchargement et le nettoyage des réservoirs (Nilsson *et al.*, 1998).

Dans un article publié en 1999, Consonni *et al.* présentent les résultats de l'étude d'une cohorte (extension) d'ouvriers employés dans une raffinerie de pétrole italienne. 1 583 ouvriers ont été employés de 1949 à 1982 et suivis jusqu'au 31 mai 1991. Des mesures de concentration au poste de travail ont permis de documenter l'exposition au benzène. Les SMR et leurs intervalles de confiance à 95% ont été calculés avec les taux nationaux de mortalités pour la période 1949-1968 et régionaux pour la période 1969-1991. Les SMR élevés sont rapportés pour la mortalité par lymphome (7 décès, SMR = 190, IC_{95%} = 76-391) et par leucémie (8 décès, SMR = 225, IC_{95%} = 97-443). L'excès de risque est particulièrement et significativement augmenté parmi des ouvriers ayant été employés plus de 15 ans. Ces résultats sont en accord avec ceux d'autres études de raffinerie de pétrole. Le hasard ou les facteurs de confusion pourraient avoir joué un rôle marginal, s'ils en ont joué un, dans ces résultats. L'exposition au benzène reste l'explication biologiquement plausible (Consonni *et al.*, 1999).

En 1999, Wong *et al.* ont publié une étude cas témoins nichée dans une étude de cohorte incluant 18 000 travailleurs américains dans le transport maritime d'essence contenant de 2 à 3% de benzène. L'objectif de l'étude cas-témoins était de définir les risques pour la leucémie, la leucémie myéloïde aiguë, les myélomes multiples et les cancers des reins. Plusieurs index quantitatifs d'exposition à l'essence ont été utilisés dans les analyses : durée d'exposition, exposition cumulative, fréquence d'exposition maximale et temps de première exposition à partir de données de mesure des hydrocarbures totaux dans l'air au poste de travail. Aucun risque accru pour les quatre cancers étudiés n'a été trouvé pour aucune catégorie de travail (ouvriers, manutentionnaires, bâtiments, mécaniciens, employés de bureau, contremaîtres ou surveillants, maintenance, conducteurs, chargeurs, autres). Les analyses avec des modèles de régression logistiques basés sur la durée d'exposition, l'exposition cumulative et la fréquence d'exposition maximale n'ont pas montré de risque accru ou de relation dose-exposition. Les auteurs concluent que l'exposition à l'essence ou au benzène, aux concentrations expérimentées par cette cohorte d'ouvriers de distribution n'est pas un facteur de risque pour la leucémie (tous types confondus), la leucémie myéloïde aiguë, les myélomes multiples ou le cancer du rein (Wong *et al.*, 1999b).

Une étude cas témoins nichée dans une étude de cohorte de travailleurs australiens dans l'industrie du pétrole a été publiée par Glass *et al.* en 2003. 79 cas de leucémies (tous types) sont appariés sur l'âge avec 5 témoins par cas issus de la même entreprise. L'exposition est estimée pour chaque personne à partir de son historique d'emploi, des informations spécifiques à chaque site et un algorithme utilisant les résultats de mesures du benzène ambiant fournis par l'industrie pétrolière australienne. Les facteurs de confusion pris en compte sont la consommation d'alcool et celle de tabac. Les résultats montrent une augmentation du risque de leucémie pour les expositions cumulées au benzène supérieures à 2 ppm-année et une exposition maximale supérieure à 0,8 ppm dans un des emplois occupés. Le risque augmente avec l'augmentation de l'exposition, à partir de 8 ppm-année l'OR est de 11,3 (IC_{95%} = 2,85-45,1). Ce risque est accru si l'on considère uniquement les leucémies myéloïdes aiguës et leucémies lymphoblastiques chroniques. Les résultats semblent montrer un léger effet aggravant des pics d'exposition comparé à la même quantité d'exposition étalée dans le temps. La date de début et la durée de l'emploi n'ont pas d'effet sur le niveau de risque. Le risque de lymphome non hodgkinien et de myélomes multiples n'est pas corrélé à l'exposition au benzène. Aucun des types de leucémie n'est associé à la consommation d'alcool ou de tabac. Les auteurs concluent qu'ils ont trouvé une augmentation du risque de leucémie chez les travailleurs de l'industrie pétrolière australienne exposé au benzène, que ces risques sont considérablement plus faibles que d'autres publiés antérieurement et qu'il n'y a aucune preuve de l'existence d'un seuil en deçà duquel il n'y a pas d'excès de risque (Glass *et al.*, 2003).

En 2005, les mêmes auteurs ont publié une ré-analyse de cette étude cas témoins nichée concernant l'estimation de l'exposition (Glass *et al.*, 2005). Ils indiquent que plus de la moitié des travailleurs de la cohorte ont commencé leur travail après 1965. La durée moyenne de leur exposition est de 20 ans. Les expositions cumulées étaient faibles avec 85% des employés exposés à moins de 10 ppm-année. Pour les 7 cas de leucémie ayant une exposition supérieure à

16 ppm année, l'OR est de 51,9 ($IC_{95\%} = 5,6-477$) comparée aux deux plus faibles catégories d'exposition. Lorsqu'on tient compte des pics d'exposition dus à des fuites « accidentelles », seuls 25% des travailleurs voient leurs niveaux d'exposition augmenter d'environ 5%. L'addition des pics d'exposition fait diminuer les OR. Les expositions cumulatives sont moins élevées que celles de certaines cohortes de travailleurs comparables (industrie pétrolière), ceci peut-être expliqué par la nature récente de la cohorte australienne (Glass *et al.*, 2005). Dans un autre article publié en 2006, les auteurs ajoutent que cette étude démontre un lien fort entre la leucémie (tout type) et une exposition modeste au benzène (Glass *et al.*, 2006). Ils notent également que les catégories d'exposition ont un effet marqué sur les OR mais ne changent rien aux conclusions.

Une étude de cohorte chez les travailleurs de l'industrie pétrolière australienne a été publiée par Gun *et al.* en 2006. L'analyse de cette cohorte est basée sur la comparaison de l'incidence des cancers chez les travailleurs à celle de la population générale (SMR et SIR). Ils trouvent une augmentation du risque de mésothéliomes (SIR = 1,77 ; $IC_{95\%} = 1,05-2,79$), de mélanomes (SIR = 1,37 ; $IC_{95\%} = 1,19-1,58$) et de cancer de la prostate (SIR = 1,18, $IC_{95\%} = 1,04-1,34$). Les chauffeurs de camions citernes ont une augmentation significative du risque de cancer du rein (SIR = 2,05 ; $IC_{95\%} = 1,06-3,59$). L'excès de risque de leucémie n'est pas significatif mais il est précisé que les 11 cas de leucémie aiguë myéloblastique sont tous dans la classe d'exposition moyenne ou forte. Les auteurs concluent que les travailleurs ont été exposés aux fibres d'amiante dans les raffineries, que l'élévation du risque de cancer de la prostate et des mélanomes n'est pas connue dans ces situations professionnelles, que l'augmentation du risque de cancer du rein devrait faire l'objet de nouvelles investigations et que l'exposition au benzène dans cette cohorte n'était probablement pas suffisante pour rendre l'excès de risque de leucémie significatif (Gun *et al.*, 2006).

4.3.1.4 Autres études épidémiologiques

Une étude cas-témoins nichée dans une cohorte de travailleurs du groupe EDF-GDF en France a été publiée en 2002 par Guenel *et al.* Cette étude comprend 72 cas de leucémies et 285 témoins appariés sur la date de naissance. Les facteurs de risques étudiés sont les expositions au benzène, aux champs électromagnétiques, à l'amiante, aux goudrons de charbon, aux solvants chlorés, aux pesticides et aux radiations ionisantes. Elles sont évaluées individuellement grâce à des matrices emploi/exposition. Parmi tous les facteurs de risques étudiés, seule l'exposition au benzène produit un excès de risque significatif et dose dépendant. Dans la catégorie des expositions cumulatives les plus fortes, (> 16,8 ppm-année), l'OR pour le risque de leucémie est de 3,6 ($IC_{95\%} = 1,1-11,7$). La relation dose-réponse pour une augmentation de 10 ppm-année est un OR de 1,2 ($IC_{95\%} = 1,0-1,5$). Ces excès de risque sont plus prononcés pour les leucémies aiguës que pour les formes chroniques mais aucun d'entre eux ne reste significatif lorsque l'on stratifie les résultats en fonction du type de leucémie. Ces excès de risques restent élevés, significatifs et dose-dépendants lorsqu'on tient compte d'une latence (temps écoulé entre la cessation de l'exposition et la survenue de la maladie) de 2, 5 et 10 ans. L'exposition moyenne continue (c'est-à-dire exposition professionnelle discontinuée convertie en exposition continue) est de 0,16 ppm chez les travailleurs de cette cohorte exposée au benzène. Les auteurs concluent

que ce niveau moyen d'exposition dans la cohorte est plus bas que celui habituellement rapporté dans les études ayant trouvé une association positive entre l'exposition au benzène et l'excès de risques de leucémie. Ceci peut-être dû à une sous estimation de l'exposition ou à l'existence de facteurs de risques professionnels non pris en compte dans les analyses statistiques (Guenel *et al.*, 2002).

En 2003, Seniori Costantini *et al.* ont publié l'actualisation d'une précédente étude de cohorte de travailleurs employés dans une usine de fabrication de chaussure en Italie du nord (Paci *et al.*, 1989). Elle comprend 1 687 personnes employées à partir du 1^{er} janvier 1950 et suivies jusqu'au 31 décembre 1999. Les expositions cumulées (concentration au poste de travail multipliée par le nombre d'années travaillées) vont de 0 à 500 ppm-année. Elles sont dues à l'utilisation de colles contenant du benzène et appliquées au pinceau par les employés pour coller les différentes parties des chaussures entre elles. Les SMR sont calculés sur la base des taux de mortalité nationaux ou régionaux. Le risque de leucémie augmente avec l'augmentation de l'exposition, mais le SMR n'est significatif que dans la plus forte catégorie d'exposition (>200 ppm-année) (SMR = 7,0 ; IC_{95%} = 1,9-18,0). En conclusion, l'exposition cumulée au benzène augmente le risque de décès par leucémie, mais la taille de l'étude ne permet pas de conclure quant aux effets du benzène à faible dose (Seniori Costantini *et al.*, 2003).

4.3.1.5 Synthèses des données disponibles pour les leucémies publiées après 97

Parmi les études épidémiologiques publiées après 1997, date de la plus récente étude mentionnée dans les VTR publiées, 7 études sont jugées de bonne qualité pour dériver une VTR (Tableau XI). Parmi celles-ci, 3 ont calculé les fonctions dose-réponse nécessaire à la construction d'une VTR (Sylver *et al.*, 2002 ; Guenel *et al.*, 2002 ; Richardson *et al.*, 2008). Les quatre autres études n'ont pas publié les fonctions exposition risques (RR/ppm-année). Elles ne seront pas utilisées pour dériver une VTR (Hayes *et al.*, 1997 ; Glass *et al.*, 2003 ; Glass *et al.*, 2005 ; Seniori Costantini *et al.*, 2003).

Tableau XI : Synthèse des résultats d'études sélectionnées pour la construction d'une VTR pour les effets cancérogènes du benzène

Référence.	Lieu d'exposition	cancer	Excès de risques (IC _{95%})	Exposition	Relation dose-réponse
Silver <i>et al.</i> , 2002	Cohorte « Pliofilm »	Leucémies	SMR _{en 1960} = 11,42 (4,17-24,87) SMR _{en 1996} = 2,47 (1,38-4,07)	nc nc	1,01 (1,006-1,014) / ppm 1,005 (1,003-1,008) / ppm
Richardson <i>et al.</i> , 2008	Cohorte « Pliofilm »	Leucémies	RR = 10,5 (2,3-46,6)	250-500 ppm-années	1,05 (1,02-1,08) / 10 ppm ^(a) 1,19 (1,10-1,29) / 10 ppm ^(b) 1,05 (0,97-1,13) / 10 ppm ^(c)
Hayes <i>et al.</i> , 1997	Cohorte chinoise CAPM+NCI	Néoplasmes Leucémies Leucémies Leucémies LAM LAM	RR = 2,2 (1,1-4,2) RR = 2,0 (0,9-4,5) RR = 2,8 (1,0-7,4) RR = 3,2 (1,1-10,1) RR = 7,1 (2,1-23,7) RR = 4,7 (1,2-18,1)	< 10 ppm en moyenne < 10 ppm en moyenne ≥25 ppm constamment < 10 ppm en moyenne ≥25 ppm constamment ≥ 25 ppm en moyenne	nc
Glass <i>et al.</i> , 2003	Industrie pétrolière australienne	Leucémies	OR = 11,3 (2,85-45,1)	>= 8 ppm-années	nc
Glass <i>et al.</i> , 2005	Industrie pétrolière australienne	Leucémies	OR = 51,9 (5,6-477)	> 16 ppm-années	nc
Guenel <i>et al.</i> , 2002	EDF-GDF France	Leucémies Leucémies aiguës	OR = 3,6 (1,1-11,7) OR = 4,6 (1,2-17,4)	> 16,8 ppm années > 16,8 ppm-années	1,2 (1,0-1,5) / 10 ppm nc
Seniori Costantini <i>et al.</i> , 2003	Fabrication chaussures Italie	Leucémies	SMR = 7,0 (1,9-18)	> 200 ppm-années	nc

LAM = leucémie aiguë myéloblastique ; nc : non communiqué

(a) Indépendamment du temps écoulé entre l'exposition et la maladie ; (b) moins de dix ans après la fin de l'exposition ; (c) de 10 à 20 ans après la fin de l'exposition

Dans ces 3 études, seuls les excès de risques (SMR, RR, OR) significatifs ont été retenus. Les résultats publiés concernent trois grands types de cancers hématopoïétiques : les leucémies, les lymphomes et les myélomes multiples. La preuve d'une relation de cause à effet entre l'exposition au benzène et la survenue de leucémie ayant été apportée par de nombreuses études expérimentales et épidémiologiques antérieures, et jugée comme suffisante par les organismes internationaux chargés de la classification des cancérogènes (CIRC, US EPA, CE), ces nouvelles études seront utilisées uniquement pour définir la relation dose-réponse.

Les indicateurs quantitatifs d'exposition utilisés par les auteurs sont relativement homogènes facilitant en cela les comparaisons. L'exposition cumulative est exprimée en ppm-année. Cette unité permet de s'affranchir de la durée d'exposition. La durée d'exposition est dans toutes les études moins bien corrélée aux augmentations de risques que le niveau de dose calculé en ppm-année. Le facteur déterminant est donc plus la dose reçue que le temps pendant lequel on est exposé. Les travaux de Richardson *et al.* ont montré que l'excès de risque diminue après la fin de l'exposition pour disparaître totalement 20 ans après. De plus, le risque est plus élevé chez les personnes de plus de 50 ans. Richardson *et al.* émet l'hypothèse que le benzène n'est pas initiateur du processus leucémogène (Richardson *et al.*, 2008), mais plutôt facilitateur. Toutefois, cette conclusion est discutable. Les 2 phénomènes qui étayaient la conclusion de Richardson *et al.* sont communs à tous les cancers et à toutes les expositions aux cancérogènes comme par exemple la diminution du risque de cancer après l'arrêt de la consommation de tabac et l'augmentation de l'incidence de tous les cancers après l'âge de 50 ans.

L'un des sujets les plus débattus dans ces études est la possibilité que le benzène soit cancérogène à faible dose. Dans les études épidémiologiques en milieu professionnel, les excès de risques sont généralement non significatifs pour les catégories de faible exposition (moins de 1 ppm)⁵ à l'exception peut-être de l'étude de Guenel *et al.* La question se pose donc de savoir si l'on peut extrapoler linéairement les relations doses réponses calculées pour les fortes doses aux faibles doses d'exposition. Indépendamment de cette question de fond, les débats portent aussi sur la forme de cette relation aux faibles doses. Pour le moment, aucune réponse définitive n'a pu être fournie. Dans la mesure où les études épidémiologiques concernent des cohortes de travailleurs (effet « travailleur sain »), il est prudent de considérer, à défaut de connaissances plus stables, qu'en population générale de plus faibles doses peuvent engendrer les mêmes effets. La population générale est composée de personnes pouvant être plus sensibles (enfants, personnes âgées, malades chroniques, etc.) que celles ayant une santé permettant un travail souvent pénible dans l'industrie (effet « travailleur sain »).

⁵ Pour rappel, dans les zones urbaines des pays européens les concentrations ambiantes en benzène sont de l'ordre de 2 à 10 µg.m⁻³ soit environ 0,0006 à 0,0001 ppm.

Dans les situations professionnelles, les expositions cumulées sont calculées en multipliant le nombre d'années exposées par la concentration de benzène obtenue pour chaque année d'exposition. Ces expositions sont discontinues puisqu'elles ont lieu 8 heures par jour et environ 250 jours par an. Un facteur de conversion des expositions discontinues en expositions continues (365 jours par an) doit donc être appliqué aux fonctions dose réponse issues des cohortes professionnelles. Généralement, ce facteur est basé sur les rapports : i) 250 jours travaillés sur 365 jours par an, ii) 10 m³ d'air respiré dans une journée de travail sur 20 m³ d'air respiré par 24h.

4.3.2 Etude retenue

Les résultats issus de la cohorte « Pliofilm » présentent l'avantage, d'être basés sur des expositions au benzène seul. Dans toutes les autres cohortes ou études cas-témoins les expositions sont multiples. Outre l'incertitude que ces multi expositions peuvent interférer dans la relation de cause à effet, elles influencent forcément la relation dose-réponse.

La présence d'autres substances associées au benzène peut modifier quantitativement cette relation. Certaines études ont montré qu'une coexposition au toluène atténuée, *via* la compétition métabolique, les effets toxiques du benzène sur les cellules hématopoïétiques (Medinsky *et al.*, 1994 ; Teuschler *et al.*, 2005 ; Gad-El-Karim *et al.*, 1984 ; Andrews *et al.*, 1977 ; Ikeda *et al.*, 1972). D'autres substances peuvent au contraire potentialiser les effets du benzène, notamment l'éthanol (Nakajima *et al.*, 1985). Dans les solvants (peintures, encres, colles) comme dans les carburants pétroliers ou dans les combustibles, la présence d'autres composés organiques volatils (COV) est pratiquement inévitable. Même si les études basées sur des mesures de benzène dans l'air au poste de travail attestent d'une véritable exposition au benzène en ne mesurant pas la présence des autres COV, les relations doses-réponses proposées ne peuvent pas être ajustées sur des cofacteurs connus et sont donc inexactes. Ceci justifie la **sélection des seules études issues de la cohorte « Pliofilm » pour dériver une VTR.**

4.4 Calcul de la VTR

Pour convertir les ppm-années en $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ d'exposition continue, la même démarche que l'US EPA a été utilisée à savoir : exposition professionnelle discontinue = 250 jours par an et 10 m³ d'air inhalé sur 20 m³.j⁻¹, soit 0,34 ppm d'exposition continue pour 1 ppm d'exposition discontinue au travail. Le facteur de conversion des ppm en $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ est de 3 200 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ par ppm. Au total 1 ppm de benzène en exposition professionnelle est égale à 1,096 mg.m⁻³ de benzène en exposition continue. L'excès de risques est égal au risque relatif moins 1 et l'ERU est égal à l'excès de risque divisé par le niveau d'exposition (conversion de ppm-année en $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ avec le coefficient expliqué ci dessus). Les ERU sont donc obtenus selon la formule suivante :

$$RR_{\text{ppm-année}} - 1$$

$$\text{ERU} = \frac{\text{RR}_{\text{ppm-année}} - 1}{\text{Facteur de conversion x exposition}} \quad [\text{eq. 1}]$$

Facteur de conversion x exposition

Les relations doses réponses publiées par Silver *et al.* en 2002 sont obtenues avec le modèle de Cox à partir des expositions cumulées en ppm-année. Transformé en exposition continue pour la population générale, le RR de 1,01 par ppm année ($IC_{95\%} = 1,006-1,014$) calculé avec les données de 1960 (donc pendant l'exposition des travailleurs puisque les deux usines ont fermé en 1965 et 1976) devient un ERU⁶ de $9,1 \cdot 10^{-6} (\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3})^{-1}$ ($IC_{95\%} = 5,5 \cdot 10^{-6}$ à $1,3 \cdot 10^{-5}$). Selon les mêmes modalités de dérivation, le RR calculé avec les données de 1996 (RR = 1,005 ; $IC_{95\%} = 1,003-1,008$) devient un ERU de $4,6 \cdot 10^{-6} (\mu\text{g}/\text{m}^3)^{-1}$ ($IC_{95\%} = 2,7 \cdot 10^{-6}$ à $7,3 \cdot 10^{-6}$). Notons que ces deux ERU sont relativement proches l'un de l'autre (recouvrement des $IC_{95\%}$) et que les valeurs de l'intervalle de confiance autour du deuxième ERU sont très proches de celle de l'ERU de l'US EPA ($2,2 \cdot 10^{-6}$ à $7,8 \cdot 10^{-6}$).

L'ERU construit selon la même méthode mais avec les données de l'étude de Guenel *et al.* en 2002 est de $1,8 \cdot 10^{-5} (\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3})^{-1}$ ($IC_{95\%} = -$ à $4,6 \cdot 10^{-5}$). Cet ERU est pratiquement du même ordre de grandeur que l'ERU obtenu à partir du RR de Richardson *et al.* basé sur la cohorte « Pliofilm » avec une latence inférieure à 10 ans. Cependant, la borne inférieure de l'intervalle de confiance de la fonction exposition risque (RR/ppm-année) est égal à 1, c'est-à-dire qu'il n'y a pas d'excès de risque. On ne peut donc pas calculer l'ERU correspondant. Ces données ne sont donc pas utilisables pour la construction de la VTR.

Si l'on utilise les données de Richardson en 2008, on obtient avec le RR établi pour une latence inférieure à 10 ans un ERU de $1,7 \cdot 10^{-5} (\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3})^{-1}$ ($IC_{95\%} = 9,1 \cdot 10^{-6}$ à $2,6 \cdot 10^{-5}$).

Tableau XII : ERU calculés

Etude	Cancers (latence)	RR/ppm-années			ERU- ($\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$) ⁻¹	ERU ($\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$) ⁻¹	ERU+ ($\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$) ⁻¹
		RR-	RR	RR+			
Silver <i>et al.</i> , 2002	Leucémies aiguës (sans)	1,006	1,01	1,014	$5,5 \cdot 10^{-6}$	$9,1 \cdot 10^{-6}$	$1,3 \cdot 10^{-5}$
	Leucémies aiguës (>10 ans)	1,003	1,005	1,008	$2,7 \cdot 10^{-6}$	$4,6 \cdot 10^{-6}$	$7,3 \cdot 10^{-6}$
Richardson, 2008	Leucémies aiguës (< 10 ans) _a	1,1	1,19	1,29	$9,1 \cdot 10^{-6}$	$1,7 \cdot 10^{-5}$	$2,6 \cdot 10^{-5}$

ERU calculés selon l'équation 1.

a, exposition de 10 ppm

⁶ $1 \text{ ppm} \times (3 \ 200 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{ppm}^{-1}) \times (250 \text{ j} / 365 \text{ j}) \times (10 \text{ m}^3 / 20 \text{ m}^3) = 1 \ 096 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$

$\text{ERU} = (\text{RR} - 1) / \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3} = (1,1-1) / 1 \ 096 \times 10 = 9,1 \cdot 10^{-6} (\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3})^{-1}$

4.5 Proposition de VTR

Les ERU disponibles sont issus de données épidémiologiques en milieu de travail. Dans la population générale, il y a des individus plus sensibles que les travailleurs. Il est donc proposé de choisir les ERU dérivés des bornes supérieures de l'intervalle de confiance autour des fonctions exposition-risque calculées par les auteurs (Richardson, 2008 ; Silver *et al.*, 2002). La moyenne géométrique des ERU correspondant aux bornes supérieures de l'IC_{95%} de chaque RR/ppm-année est de $1,4 \cdot 10^{-5}$ (Silver *et al.*: $1,3 \cdot 10^{-5}$ et $7,3 \cdot 10^{-6}$; Richardson : $2,6 \cdot 10^{-5}$).

La VTR par voie respiratoire pour les leucémies est de $2,6 \cdot 10^{-5} (\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3})^{-1}$. Cette VTR est du même ordre de grandeur que les dernières VTR dérivées par les organismes internationaux. A noter qu'elle ne concerne que les leucémies aiguës. Faute de données numériques permettant de la calculer, il n'a pas été possible de fixer une VTR pour les leucémies myéloïdes chroniques.

5 Conclusion

A partir des informations disponibles, le groupe de travail considère le benzène et ses métabolites comme des substances génotoxiques. Selon l'arbre décisionnel proposé par le guide méthodologique « Méthode de construction de valeurs toxicologiques de référence pour les substances chimiques cancérigènes » (Afsset, 2010), même si le mécanisme de l'effet cancérigène n'est pas entièrement élucidé, l'un des modes d'action de cette substance (et/ou de ses métabolites) conduit, à retenir l'hypothèse d'absence de seuil.

L'effet cancérigène du benzène apparaît quelle que soit la dose reçue et sa probabilité de survenue croît avec la dose. La VTR s'exprime alors sous la forme d'un ERU (excès de risque unitaire) et se définit comme la probabilité supplémentaire, par rapport à un sujet non exposé, qu'un individu développe une leucémie s'il est exposé pendant sa vie entière à une unité de dose de la substance.

La VTR est égale à $2,6 \times 10^{-5} (\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3})^{-1}$, soit $0,038 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ pour un risque de 10^{-6} , $0,38 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ pour un risque de 10^{-5} , $3,8 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ pour un risque de 10^{-4} .

Tableau XIII : VTR établie par l'Anses pour le benzène

Effet critique	Relation dose réponse	VTR
Leucémies aiguës Richardson (2008)	IC _{95%} RR _{10 ppm-année} = 1,29	<p>ERU = $2,6 \times 10^{-5} (\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3})^{-1}$.</p> <p>0,038 $\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ pour un risque de 10^{-6}</p> <p>0,38 $\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ pour un risque de 10^{-5}</p> <p>3,8 $\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ pour un risque de 10^{-4}</p>
		Niveau de confiance fort

Niveau de confiance : Fort

- Choix de l'effet critique : niveau de confiance élevé (études épidémiologiques de bonne qualité scientifique ; effets cohérents avec les études toxicologiques),
- Qualité de l'étude clé : niveau de confiance fort (cette étude correspond aux critères de sélection pour la dérivation d'une VTR. Elle fournit des relations dose réponse pour les excès de risques présentés)
- Choix de la dose critique : fort
- Construction de la VTR : niveau de confiance fort

Date de validation du rapport d'expertise collective

- par le groupe de travail : **27 septembre 2013**
- par le comité d'experts spécialisé : **10 octobre 2013**

Signatures :

Maisons-Alfort, le

Au nom des experts du GT
« Valeurs toxicologiques de référence II »,

M Lafon
Le président du GT

Maisons-Alfort, le

Au nom des experts du CES
« Évaluation des risques liés aux substances
chimiques »,

M Guerbet
Le président du CES

6 Addendum

La recherche bibliographique a pris fin en juin 2013.

Une nouvelle publication sur la cohorte « Pliofilm » est parue en juillet 2013 et n'a donc pas été prise en compte pour l'élaboration de la VTR. Cependant, cet article conforte les conclusions du rapport.

Dans la revue *International Journal of Occupational and Environmental Health*- vol 19,3, PF Infante souligne qu'un certain nombre de leucémies n'ont pas été prises en compte dans cette cohorte.

7 Bibliographie

Date de fin de la bibliographie : juin 2013

- Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (Afsset) (2010) Valeurs toxicologiques de référence (VTR) pour les substances cancérigènes. Méthode de construction de VTR fondées sur des effets cancérigènes. Saisine n° 2004/AS16. (Afsset, Maisons-Alfort) 107p.
- Aksoy M, Erdem S, DinCol G. (1974) Leukemia in shoe-workers exposed chronically to benzene. *Blood*. 1974 ;44(6):837-41.
- Aksoy M, Erdem S, Dincol G. (1976) Types of leukemia in chronic benzene poisoning. A study in thirty-four patients. *Acta Haematol*. 1976 ;55(2):65-72.
- Aksoy M. (1977) Leukemia in workers due to occupational exposure to benzene. *New Istanbul Contrib Clin Sci*. 1977 ;12(1):3-14.
- Andrews LS, Lee EW, Witmer CM, Kocsis JJ, Snyder R. (1977) Effects of toluene on the metabolism, disposition and hemopoietic toxicity of (3H)benzene. *Biochem Pharmacol*. 1977 ;26(4):293-300.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (2007) Toxicological profile for Benzene. (ATSDR, Atlanta) p: Disponible sur <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp3.pdf>
- Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) (2012) Benzene. Chemical Agents and related occupations. Volume 100F. A review of human carcinogens. p249-294 (CIRC, Lyon) Disponible sur <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100F/mono100F-24.pdf>
- Commission Européenne (CE) (1998) Benzene. Position paper. Commission of European Communities, Council Directive on Ambient Air Quality Assessment and Management, Working group on Benzene. (Bruxelles) 147p. Disponible sur <http://ec.europa.eu/environment/air/pdf/ppbenzene.pdf>
- Consonni D, Pesatori AC, Tironi A, Bernucci I, Zocchetti C, Bertazzi PA. (1999) Mortality study in an Italian oil refinery: extension of the follow-up. *Am J Ind Med*. 1999 ;35(3):287-94.
- Crump K, Allen B. (1984) Quantitative estimates of risk of leukemia from occupational exposure to benzene. Unpublished. Los Angeles: Prepared for the Occupational Safety and Health Administration by Science Research Systems Inc. ; 1984.
- Crump KS. (1994) Risk of benzene-induced leukemia: a sensitivity analysis of the pliofilm cohort with additional follow-up and new exposure estimates. *J Toxicol Environ Health*. 1994 ;42(2):219-42.
- Crump KS. (1996) Risk of benzene-induced leukemia predicted from the Pliofilm cohort. *Environ Health Perspect*. 1996 ;104 Suppl 6:1437-41.
- Eastmond DA, Rupa DS, Hasegawa LS. (1994) Detection of hyperdiploidy and chromosome breakage in interphase human lymphocytes following exposure to the benzene metabolite hydroquinone using multicolor fluorescence in situ hybridization with DNA probes. *Mutat Res*. 1994 ;322(1):9-20.

- Gad-EI-Karim MM, Harper BL, Legator MS. (1984) Modifications in the myeloclastogenic effect of benzene in mice with toluene, phenobarbital, 3-methylcholanthrene, Aroclor 1254 and SKF-525A. *Mutat Res.* 1984 ;135(3):225-43.
- Glass DC, Gray CN, Jolley DJ, Gibbons C, Sim MR, Fritschi L, et al. (2003) Leukemia risk associated with low-level benzene exposure. *Epidemiology.* 2003 ;14(5):569-77.
- Glass DC, Gray CN, Jolley DJ, Gibbons C, Sim MR. (2005) Health Watch exposure estimates: do they underestimate benzene exposure? *Chem Biol Interact.* 2005 ;153-154:23-32.
- Glass DC, Gray CN, Jolley DJ, Gibbons C, Sim MR. (2006) The health watch case-control study of leukemia and benzene: the story so far. *Ann N Y Acad Sci.* 2006 ;1076:80-9.
- Guenel P, Imbernon E, Chevalier A, Crinquand-Calastreng A, Goldberg M. (2002) Leukemia in relation to occupational exposures to benzene and other agents: a case-control study nested in a cohort of gas and electric utility workers. *Am J Ind Med.* 2002 ;42(2):87-97.
- Gun RT, Pratt N, Ryan P, Roder D. (2006) Update of mortality and cancer incidence in the Australian petroleum industry cohort. *Occup Environ Med.* 2006 ;63(7):476-81.
- Hayes RB, Yin SN, Dosemeci M, Li GL, Wacholder S, Travis LB, et al. (1997) Benzene and the dose-related incidence of hematologic neoplasms in China. Chinese Academy of Preventive Medicine--National Cancer Institute Benzene Study Group. *J Natl Cancer Inst.* 1997 ;89(14):1065-71.
- Hayes RB, Yin S, Rothman N, Dosemeci M, Li G, Travis LT, et al. (2000) Benzene and lymphohematopoietic malignancies in China. *J Toxicol Environ Health A.* 2000 ;61(5-6):419-32.
- Hayes RB, Songnian Y, Dosemeci M, Linet M. (2001) Benzene and lymphohematopoietic malignancies in humans. *Am J Ind Med.* 2001 ;40(2):117-26.
- Ikeda M, Otsuji H, Imamura T. (1972) In vivo suppression of benzene and styrene oxidation by co-administered toluene in rats and effects of phenobarbital. *Xenobiotica.* 1972 ;2(2):101-6.
- Infante PF, Rinsky RA, Wagoner JK, Young RJ. (1977) Leukaemia in benzene workers. *Lancet.* 1977 ;2(8028):76-8.
- Infante PF, White MC.(1983). Benzene: epidemiologic observations of leukemia by cell type and adverse health effects associated with low-level exposure. *Environ Health Perspect.* 1983 Oct;52:75-82.
- Jarvholm B, Mellblom B, Norrman R, Nilsson R, Nordlinder R. (1997) Cancer incidence of workers in the Swedish petroleum industry. *Occup Environ Med.* 1997 ;54(9):686-91.
- Lan Q, Zhang L, Li G, Vermeulen R, Weinberg RS, Dosemeci M, et al. (2004) Hematotoxicity in workers exposed to low levels of benzene. *Science.* 2004 ;306(5702):1774-6.
- Maltoni C, Conti B, Cotti G (1983). Benzene: a multipotential carcinogen. Results of long-term bioassays performed at the Bologna Institute of Oncology. *Am J Ind Med.* 1983;4(5):589-630.
- Medinsky MA, Schlosser PM, Bond JA. (1994) Critical issues in benzene toxicity and metabolism: the effect of interactions with other organic chemicals on risk assessment. *Environ Health Perspect.* 1994 ;102 Suppl 9:119-24.
- Nakajima T, Okuyama S, Yonekura I, Sato A. (1985) Effects of ethanol and phenobarbital administration on the metabolism and toxicity of benzene. *Chem Biol Interact.* 1985 ;55(1-2):23-38.
- Nilsson RI, Nordlinder R, Horte LG, Jarvholm B. (1998) Leukaemia, lymphoma, and multiple myeloma
- Office of Environmental Health Hazard Assessment (OEHHA) (2005) Benzene. Appendix B: B69-76. Air toxic Hot Spots Program, Risk Assessment Guidelines. Part II Technical support Document for describing Available cancer potency factors. (OEHHA, Californie) 662p. Disponible sur http://oehha.ca.gov/air/hot_spots/pdf/May2005Hotspots.pdf
- Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (1995) Benzene. Environmental Health Criteria 150. (OMS, Genève). Disponible sur <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc150.htm>
- Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2000) Chapter 5.2: Benzene. Air Quality Guideline for Europe. (OMS, Copenhague). 18p. Disponible sur http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0017/123056/AQG2ndEd_5_2benzene.pdf
- Ott MG, Townsend JC, Fishbeck WA, Langner RA. (1978) Mortality among individuals occupationally exposed to benzene. *Arch Environ Health.* 1978 ;33(1):3-10.

- Paci E, Buiatti E, Seniori Costantini AS, Miligi L, Pucci N, Scarpelli A, et al. (1989) Aplastic anemia, leukemia and other cancer mortality in a cohort of shoe workers exposed to benzene. *Scand J Work Environ Health*. 1989 ;15(5):313-8.
- Paustenbach DJ, Price PS, Ollison W, Blank C, Jernigan JD, Bass RD, et al. (1992) Reevaluation of benzene exposure for the Pliofilm (rubberworker) cohort (1936-1976). *J Toxicol Environ Health*. 1992 ;36(3):177-231.
- Paustenbach DJ, Bass RD, Price P. (1993) Benzene toxicity and risk assessment, 1972-1992: implications for future regulation. *Environ Health Perspect*. 1993 ;101 Suppl 6:177-200.
- Paxton MB, Chinchilli VM, Brett SM, Rodricks JV. (1994a) Leukemia risk associated with benzene exposure in the pliofilm cohort: I. Mortality update and exposure distribution. *Risk Anal*. 1994 ;14(2):147-54.
- Paxton MB, Chinchilli VM, Brett SM, Rodricks JV. (1994b) Leukemia risk associated with benzene exposure in the pliofilm cohort. II. Risk estimates. *Risk Anal*. 1994 ;14(2):155-61.
- Richardson DB. (2008) Temporal variation in the association between benzene and leukemia mortality. *Environ Health Perspect*. 2008 ;116(3):370-4.
- Rinsky RA, Young RJ, Smith AB. (1981) Leukemia in benzene workers. *Am J Ind Med*. 1981 ;2(3):217-45.
- Rinsky RA, Smith AB, Hornung R, Filloon TG, Young RJ, Okun AH, et al. (1987) Benzene and leukemia. An epidemiologic risk assessment. *N Engl J Med*. 1987 ;316(17):1044-50.
- Rinsky RA, Hornung RW, Silver SR, Tseng CY. (2002) Benzene exposure and hematopoietic mortality: A long-term epidemiologic risk assessment. *Am J Ind Med*. 2002 ;42(6):474-80.
- RIVM (National Institut of Public Health and The Environment) (2001) Re-evaluation of human toxicological maximum permissible risk level. RIVM report 711701 025. (RVIM, Bilthoven) 68p. Disponible sur <http://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/711701025.pdf>
- Rothman N, Smith MT, Hayes RB, Li GL, Irons RD, Dosemeci M, et al. (1996) An epidemiologic study of early biologic effects of benzene in Chinese workers. *Environ Health Perspect*. 1996 ;104 Suppl 6:1365-70.
- Rushton L, Romaniuk H. (1997b) A case-control study to investigate the risk of leukaemia associated with exposure to benzene in petroleum marketing and distribution workers in the United Kingdom. *Occup Environ Med*. 1997 ;54(3):152-66.
- Santé Canada (1993) Benzène. Liste des substances d'intérêt prioritaire, rapport d'évaluation. (Gouvernement du Canada, Environnement Canada, Santé et Bien-être social Canada, Ottawa) 48p. Disponible sur http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/alt_formats/hecs-sesc/pdf/pubs/contaminants/psl1-lsp1/benzene/benzene-fra.pdf
- Santé Canada (2007) Le benzène dans l'eau potable. Document de consultation publique. (Gouvernement du Canada, Environnement Canada, Santé et Bien-être social Canada, Ottawa).
- Seniori Costantini A, Quinn M, Consonni D, Zappa M. (2003) Exposure to benzene and risk of leukemia among shoe factory workers. *Scand J Work Environ Health*. 2003 ;29(1):51-9.
- Silver SR, Rinsky RA, Cooper SP, Hornung RW, Lai D. (2002) Effect of follow-up time on risk estimates: a longitudinal examination of the relative risks of leukemia and multiple myeloma in a rubber hydrochloride cohort. *Am J Ind Med*. 2002 ;42(6):481-9.
- Smith MT, Zhang L. (1998) Biomarkers of leukemia risk: benzene as a model. *Environ Health Perspect*. 1998 ;106 Suppl 4:937-46.
- Stillman WS, Varella-Garcia M, Gruntmeir JJ, Irons RD. (1997) The benzene metabolite, hydroquinone, induces dose-dependent hypoploidy in a human cell line. *Leukemia*. 1997 ;11(9):1540-5.
- Teuschler LK, Gennings C, Hartley WR, Carter H, Thiyagarajah A, Schoeny R, et al. (2005) The interaction effects of binary mixtures of benzene and toluene on the developing heart of medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere*. 2005 ;58(9):1283-91.
- Tsai SP, Wen CP, Weiss NS, Wong O, McClellan WA, Gibson RL. (1983) Retrospective mortality and medical surveillance studies of workers in benzene areas of refineries. *J Occup Med*. 1983 ;25(9):685-92.

- US Environmental Protection Agency (US EPA) (2003) Integrated Risk Information System: Benzene (CASRN 71-43-2). (US EPA, Washington) Disponible sur <http://www.epa.gov/iris/subst/0276.htm>
- Wong O. (1995) Risk of acute myeloid leukaemia and multiple myeloma in workers exposed to benzene. *Occup Environ Med.* 1995 ;52(6):380-4.
- Wong O, Raabe GK. (1995) Cell-type-specific leukemia analyses in a combined cohort of more than 208,000 petroleum workers in the United States and the United Kingdom, 1937-1989. *Regul Toxicol Pharmacol.* 1995b ;21(2):307-21.
- Wong O, Trent L, Harris F. (1999b) Nested case-control study of leukaemia, multiple myeloma, and kidney cancer in a cohort of petroleum workers exposed to gasoline. *Occup Environ Med.* 1999b ;56(4):217-21.
- Zhang B. (1996) (Investigation of health status in workers exposed to low-level benzene). *Zhonghua Zhang L, Rothman N, Wang Y, Hayes RB, Bechtold W, Venkatesh P, et al. (1996b) Interphase cytogenetics of workers exposed to benzene. Environ Health Perspect.* 1996 ;104 Suppl 6:1325-9.
- Zhang L, Rothman N, Wang Y, Hayes RB, Li G, Dosemeci M, et al. (1998a) Increased aneusomy and long arm deletion of chromosomes 5 and 7 in the lymphocytes of Chinese workers exposed to benzene. *Carcinogenesis.* 1998 ;19(11):1955-61.
- Zhang L, Wang Y, Shang N, Smith MT. (1998b) Benzene metabolites induce the loss and long arm deletion of chromosomes 5 and 7 in human lymphocytes. *Leuk Res.* 1998 ;22(2):105-13.

ANNEXES

Annexe 1 : Liens mentionnés dans les déclarations publiques d'intérêts des experts

Cette partie présente les liens déclarés par les experts dans le cadre de leur déclaration publique d'intérêt et précise d'une part comment ces liens ont été analysés par rapport au domaine sur lequel porte la saisine et d'autre part la manière dont ils ont été gérés, eu égard à un risque potentiel de conflit d'intérêts.

Les déclarations publiques d'intérêts sont mises à jour par les experts à chaque changement de situation. Au cours des expertises, les liens d'intérêts sont réexaminés au vu de l'ordre du jour au début de chaque réunion.

RAPPEL DES RUBRIQUES DE LA DECLARATION PUBLIQUE D'INTERETS

- 1.1. Activité principale exercée actuellement
- 1.2. Activités exercées à titre principal au cours des 5 dernières années
- 2.1. Activités exercées à titre secondaires : participation à une instance décisionnelle d'un organisme public ou privé dont l'activité, les techniques ou produits entrent dans le champ de compétences, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).
- 2.2. Activités exercées à titre secondaires : activité de consultant, de conseil ou d'expertise auprès d'un organisme entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).
- 2.3. Activités exercées à titre secondaires : participation à des travaux scientifiques pour des organismes publics et/ou privés entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).
- 2.4. Activités exercées à titre secondaires : rédaction d'articles, interventions dans des congrès, conférences, colloques, réunions publiques diverses ou formations organisés ou soutenus financièrement par des entreprises ou organismes privés entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).
- 2.5. Activités exercées à titre secondaires : inventeur et/ou détenteur d'un brevet ou d'un produit, procédé ou toute autre forme de propriété intellectuelle non brevetée en relation avec le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).
- 3. Activités dirigées par l'expert et qui ont bénéficié d'un financement par un

organisme à but lucratif dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).

4. Participations financières de l'expert dans le capital d'une société dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).
5. Proches parents de l'expert salariés et/ou possédant des intérêts financiers dans toute structure dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).
6. Autres liens d'intérêts (actuellement et au cours des 5 années précédentes).

POUR LE COMITE D'EXPERT SPECIALISE

POUR LE COMITE D'EXPERT SPECIALISE

NOM	Prénom	Date de déclaration des intérêts
Analyse Anses :	<i>Rubrique de la DPI</i> Description de l'intérêt <i>en cas de lien déclaré</i>	

BELZUNCES	Luc	09 septembre 2013
	1.1 INRA : directeur de recherche, Laboratoire de Toxicologie Environnementale (depuis 1985)	
	1.2 Université d'Avignon : Enseignant vacataire (depuis 1998) Université d'Angers : Enseignant vacataire (depuis 2007) Université Aix-Marseille : Enseignant vacataire (depuis 2009) Mediterranean Agronomic Institute of Chania, Crète : Enseignant vacataire (2005 à 2011)	

2.2

AFSSET : expert au sein du groupe de travail CMR (2007-2010) (rémunération personnelle)

AFSSAPS : expert au sein du groupe de travail Biocides (2009 à 2011) puis président (2011 à 2013) (rémunération personnelle)

CRITT PACA : Référent Pesticides de la commission Sécurité Alimentaire (2009 à 2012) (aucune rémunération) (aucune rémunération)

ANSES : vice-président du groupe de travail « perturbateurs endocriniens et reprotoxiques de catégorie 3 » (depuis 2010) (rémunération personnelle)

ANSES : expert au du CES « substances chimiques » - 3 mandats (depuis 2003)

Union nationale de l'apiculture française : consultant ponctuel (2011) (rémunération personnelle)

Agoodforgood : consultant ponctuel (08-09/09/2011) (rémunération personnelle)

2.3

Projet Européen FEAGA : biodégradation des pesticides chez l'abeille. Etude monocentrique. Investigateur coordonnateur (2010-2013) (rémunération à un organisme)

Projet Européen FEAGA : Impacts des stressseurs environnementaux sur la fertilité des mâles et des reines d'abeilles. Etude multicentrique. Co-investigateur (2010-2013) (rémunération à un organisme)

Projet Européen FEAGA : Agents infectieux et capacité reproductrice des reines d'abeilles. Etude multicentrique. Co-investigateur (2010-2013) (rémunération à un organisme)

Projet Européen FEAGA : Influence de l'alimentation sur la résistance aux stressseurs biotiques et abiotiques chez l'abeille. Etude multicentrique. Co-investigateur (2010-2013) (rémunération à un organisme)

Projet Européen FEAGA : Causes des problèmes d'affaiblissement des colonies d'abeilles sur lavande. Etude multicentrique. Co-investigateur (2010-2013) (rémunération à un organisme)

CNRS : maladies infectieuses émergentes. Toxic-

	<p>pathologie de l'abeille. Etude multicentrique. Co-investigateur (2010) (rémunération personnelle)</p> <p>2.4</p> <p>Diverses associations apicoles, agricoles et environnementales (depuis 2000) (rémunération personnelle)</p> <p>6</p> <p>Association Terre d'Abeilles : Bourse de thèse (Sujet de la thèse : Amélioration des procédures d'évaluation du risque pesticides pour les abeilles) (2011-2014)</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	
BOURGEOIS	<p>Damien</p> <p>1</p> <p>CNRS : chercheur (depuis 2006)</p> <p>5</p> <p>Expansia PCAS Maintenance Service Environnement</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	10 octobre 2012
CASSIER-CHAUVAT	<p>Corinne</p> <p>1</p> <p>CNRS : Directeur de recherche (depuis 1983)</p> <p>2.3</p> <p>C Nano IDF : Etude sur les effets des nanoparticules d'oxyde de métaux sur des bactéries de l'environnement (TiO₂, CeO₄) (2009-2012) (aucune rémunération)</p> <p>CEA : effets des nanoparticules sur des bactéries de l'environnement (TiO₂, CeO₄) (2012-2014) (aucune rémunération)</p> <p>2.4</p> <p>Vivagora - Paris : produits solaire et nanotitane (2012) (aucune rémunération)</p> <p>Vivagora - Paris : produits solaire et nanotitane (2012) (aucune rémunération)</p> <p>5</p> <p>CEA</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	20 septembre 2013

<p>CHEVALIER</p> <p>Anne</p> <p>1.2</p> <p>InVS : épidémiologiste (2005-2011)</p> <p>2.3</p> <p>InVS : santé travail. Etudes épidémiologiques (formaldéhyde, amiante, maladies professionnelles). Investigateur coordonnateur (aucune rémunération)</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	<p>27 juillet 2013</p>
<p>EMPEREUR-BISSONNET</p> <p>Pascal</p> <p>1.1</p> <p>InVS : responsable d'unité (depuis 2003)</p> <p>2.1</p> <p>Société française de santé environnement : administrateur (2009-2011) (aucune rémunération)</p> <p>5</p> <p>Laboratoire Servier</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	<p>12 octobre 2012</p>
<p>ENRIQUEZ</p> <p>Brigitte</p> <p>1.1 et 1.2</p> <p>Ministère de l'Agriculture : professeur pharmacie-toxicologie (depuis 1979)</p> <p>Gérant société EURL-Bioecopharmaactivité de packaging de médicaments vétérinaires (depuis 2011, arrêt prévu avant fin 2013)</p> <p>2.1</p> <p>Examen professionnel d'ingénieur de recherche hors classe : membre extérieur de jury (2011) (rémunération personnelle)</p> <p>Commission scientifique spécialisée ANSES-Instance d'évaluation des chercheurs : membre extérieur du jury (2011) (rémunération personnelle)</p> <p>Concours de directeur de recherche de 2^{ème} classe : membre extérieur du jury (2011) (aucune rémunération)</p> <p>Evaluation de l'activité 2009-2010 des charges de recherche de 1^{ère} classe : membre extérieur du jury (2012) (rémunération personnelle)</p> <p>Commission de Pharmacovigilance vétérinaire : membre élu (deux nominations) (2002-2009) (aucune</p>	<p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	<p>26 octobre 2012</p>

rémunération)

2.2

Tribunal de Grande instance de Mendes : Expertise "résidus" de médicaments vétérinaires dans les poissons dans le cadre d'un jugement d'une société d'aquaculture (2012) (rémunération personnelle)

Laboratoire Pfizer : Conférences sur l'Antibiothérapie raisonnée (2010) (rémunération personnelle)

Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine

Analyse Anses :

GUENOT Dominique

28 février 2013

1.1

CNRS : chargée de recherche (depuis 1986)

2.2

ANSES : expert (2008-2013) (rémunération personnelle)

2.4

EORTC-EACR-NCI : Congrès de l'association européenne du cancer sur Molecular subtyping of 159 stable microsatellite colon polyps à Genève, Suisse (2008) (prise en charge des frais de déplacement, aucune rémunération)

Annual meeting of the European Cancer Center (EuCC) sur Search of molecular markers for human colon tumor progression à Bâle, Suisse (2008) (prise en charge des frais de déplacement, aucune rémunération)

Club des cellules digestives : congrès à Lyon sur la recherche de gènes localisés sur le bras long du chromosome 20 impliqués dans les mécanismes de progression tumorale des cancers coliques (2008) (prise en charge des frais de déplacement, aucune rémunération)

American association of cancer research (AACR) : congrès sur « Is irinotecan and rapamycin combination, targeting mTOR/HIF-1 alpha axis, a new effective » à Denver, USA (2009) (prise en charge des frais de déplacement, aucune rémunération)

EACR : The european multidisciplinary cancer congress sur « Impact of altered expression of E2Fs gene family on tumorigenic and phenotypic » à Oslo, Suède (2010) (prise en charge des frais de déplacement, aucune rémunération)

EACR : The european multidisciplinary cancer

congress sur « Are the methylation of MGMT (O6-methylguanine-DNA methyltransferase) » à Stockholm, Suède (2011) (prise en charge des frais de déplacement, aucune rémunération)

American association of cancer research (AACR) : congrès sur « the role of the E2F2 and ID3 transcription factors in colon tumour growth » à Washington, USA (2013 (prise en charge des frais de déplacement, aucune rémunération)

3

Merck Serono : Convention de mécénat - Equipe de recherche EA3430 bénéficiaire. Bourse (2012)

6

PHRC national - Essai clinique multicentrique Phase I. Investigateur : HU Strasbourg (2010-2012)

Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine

Analyse Anses :

GUERBET Michel

7 août 2013

1.1

Université de Rouen : professeur (depuis 1988)

2.2

ANSM : expert au sein du groupe de travail préclinique et au sein de la commission d'AMM des médicaments (depuis 2006) (rémunération personnelle)

INERIS : expert au sein du groupe de travail Normes Qualité environnementale (depuis 2009) (rémunération à un organisme)

HCSP : expert au sein du groupe de travail Thanatopraxie (2012) (aucune rémunération)

2.4

ARC pharma : évaluation du risque environnemental des médicaments (2009) (aucune rémunération, non prise en charge des frais de déplacement)

Rencontres de pharmacologie clinique : impact des médicaments sur l'environnement. Giens (2010) (aucune rémunération, non prise en charge des frais de déplacement)

ARET : toxicité du plomb et conséquences en évaluation et gestion des risques (2012) (aucune rémunération, non prise en charge des frais de déplacement)

Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine

Analyse Anses :

<p>HUYNH Cong Khanh</p> <p>1.1</p> <p>Institut universitaire Romand de Santé au travail (IST) : chimiste (depuis 1978)</p> <p>2.2</p> <p>ERTEC (filiale suisse de Colas) : formation pour les analyses des HAP dans le bitume par GC-MS (2012) (rémunération à un organisme)</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	<p>5 août 2013</p>
<p>LAFON Dominique</p> <p>1.1</p> <p>INRS : chargé de mission (depuis 2000)</p> <p>Dassault Falcon service : Médecin du travail (depuis 1995)</p> <p>Archives des maladies professionnelles et de l'environnement (revue) : responsable de rubrique et rédacteur en chef adjoint (depuis 1992)</p> <p>2.2</p> <p>AFSSAPS : expert à la Commission cosmétologie (2010-2012) (aucune rémunération)</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	<p>22 octobre 2012</p>
<p>LAGADIC-GOSSMANN Dominique</p> <p>1.1</p> <p>CNRS : directrice de recherche 2^{ème} classe (depuis 1992)</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	<p>2 avril 2013</p>
<p>LAUBY-SECRETAN Béatrice</p> <p>1.1</p> <p>IARC-OMS : scientifique (depuis 2002)</p> <p>2.4</p> <p>Université de Grenoble : Journée FMC Quoi de neuf en Cancérologie (2008) (aucune rémunération, prise en charge des frais de transport)</p> <p>Université Claude Bernard Lyon 1er : Journée de formation de la Société de SMST Lyon: Les cancers professionnels (2010) (aucune rémunération, non prise en charge des frais de transport)</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la</p>	<p>30 septembre 2013</p>

thématique de la saisine		
LAUDET	Annie Aucun lien déclaré	22 février 2013
Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine		
MÉNÉTRIER	Florence 1.1 et 1.2 Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives : Responsable de l'Unité d'expertise en radiotoxicologie et toxicologie à la Direction des Sciences du Vivant (depuis 2008)	22 octobre 2012
Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine		
MICHIELS	Fabrice 1.1 Ministère de la Défense : médecin de prévention (depuis 1987) 2.3 ASSTV 86 - étude monocentrique sur génotoxicité et troubles respiratoires chez les salariés des fonderies d'aluminium. Investigateur coordonnateur (2011-2012) (Rémunération personnelle) 2.4 Société d'hygiène et de médecine du travail dans les armées et industries d'armement (SHMTAIA) : médecin et ergonome : action pluridisciplinaire, exemple de la prévention des RPS à Toulouse (2012) (aucune rémunération, non prise en charge des frais de déplacement) Société française de médecine du travail : apport de la biométrie à l'évaluation des effets néphrotoxiques chez des salariés exposés au cadmium (2012) (aucune rémunération, non prise en charge des frais de déplacement) INRS : international symposium about mixed exposure à Nancy (2012) Sujet Reproduction disorders in male welders (aucune rémunération, non prise en charge des frais de déplacement) SHMTAIA : environnement physique et chimique au travail à Paris (2011) Sujet : Assemblage à chaud des métaux: critères d'évaluation des risques (aucune rémunération, non prise en charge des frais de	9 septembre 2013

	<p>déplacement)</p> <p>Société française de médecine du travail : congrès national de médecine et santé au travail à Toulouse (2010). Sujet : Evaluation des troubles génotoxique et respiratoire dans les fonderies d'aluminium (aucune rémunération, non prise en charge des frais de déplacement)</p> <p>SHMTAIA : Age, travail, handicap à Metz (2009) Sujet : Adapter le travail à des séquelles cognitives d'AVC (aucune rémunération, non prise en charge des frais de déplacement)</p> <p>APMT-BTP : journées nationales de santé au travail du BTP à Blois (2009) Sujet : "le risque toxique lors des opérations de brasage fort dans le secteur du BTP" et "stratégie médicale face à un soudeur" (aucune rémunération, prise en charge des frais de déplacement)</p> <p>SHMTAIA : appareil cardio-respiratoire et travail à Lille (2008) Sujet : Toxicité des fibres de carbone : application au crash du Rafale (aucune rémunération, non prise en charge des frais de déplacement)</p> <p>6</p> <p>Université de Bretagne occidentale : enseignement sur les risques liés au soudage (2010-2011)</p> <p>Université à l'Université de Rennes : enseignements sur les risques liés au soudage (depuis 2012)</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	
PRAT	<p>Odette</p> <p>1.1</p> <p>CEA /DSV : chercheur (depuis 2000)</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	5 avril 2013
SCHROEDER	<p>Henri</p> <p>1.1</p> <p>Université de Lorraine : enseignant chercheur (depuis 1999)</p> <p>2.1</p> <p>Société française de toxicologie : membre (depuis 10/2009) (aucune rémunération)</p> <p>Association pour la recherche en toxicologie : membre (depuis 2012) (aucune rémunération)</p>	28 août 2013

Club de neurologie de l'environnement : membre du bureau (depuis 2009) (aucune rémunération)

Société des neurosciences : membre (depuis 1992) (aucune rémunération)

Société cerveau et maladies cérébro-vasculaires : membre (depuis 2007) et président (depuis 2012) (aucune rémunération)

Groupement Associé des Enseignants de Toxicologie (GATOX) : membre (depuis 2012) (aucune rémunération)

International Neurotoxicology Association : membre (depuis 2013) (aucune rémunération)

2.2

ANSES : expert au sein du Comité d'Experts Spécialisées « Evaluation des risques liés aux substances chimiques » (2010-2013) (rémunération personnelle)

ANSES : expert au sein du groupe de travail « Evaluation des risques sanitaires liés à l'utilisation professionnelle des produits bitumineux » (2010-2013) (rémunération personnelle)

ANSES : rapporteur de congrès scientifiques (2010) (rémunération au laboratoire de recherche)

ANSES : rédaction d'articles scientifiques publiés dans le Bulletin de Veille Scientifique de l'agence (2009-2011) (rémunération au laboratoire de recherche)

2.3

Galactis Pharma : étude monocentrique sur les effets comportementaux de l'administration aigue de peptides d'origine alimentaire. Investigateur principal (2011-2012) (rémunération au laboratoire de recherche)

2.4

Eurotox : congrès à Rhodes (2008) Sujet : Neurotoxicité de polluants organiques persistants (aucune rémunération, prise en charge des frais de déplacement)

HENVI : International Workshop - Frontiers in environmental health (2008) Sujet : Neurotoxicité de la pollution atmosphérique (HAP) (aucune rémunération, prise en charge des frais de déplacement)

Réunion du Club de Neurologie de l'Environnement à Sarreguemines (2009) (aucune rémunération, prise en

charge des frais de déplacement)

Société Française de Toxicologie : Congrès annuel à Nancy (2009) Sujet : Neurotoxicité de l'exposition précoce à des matrices alimentaires contaminées (HAP, PCB) (aucune rémunération, prise en charge des frais de déplacement)

IUTOX : congrès à Barcelone (2010) Sujet : Neurotoxicité de l'exposition précoce à des matrices alimentaires contaminées (HAP, PCB) (aucune rémunération prise en charge des frais de déplacement)

Société Française de Toxicologie : Congrès annuel à Paris (2010) Sujet : Neurotoxicité de l'exposition précoce à des matrices alimentaires contaminées (HAP, PCB) (aucune rémunération, prise en charge des frais de déplacement)

Journées du réseau Français de Métabolomique et Fluxomique à Paris (2011) Sujet : Neurotoxicité de l'exposition précoce à des matrices alimentaires contaminées (HAP, PCB). Couplage aux données métabolomiques. (aucune rémunération, prise en charge des frais de déplacement)

Colloque de l'ARET à Paris (2011) Sujet : Neurotoxicité de l'exposition précoce à des matrices alimentaires contaminées (HAP) (aucune rémunération, prise en charge des frais de déplacement)

Colloque de l'ARET à Paris (2012) Sujet : Neurotoxicité de l'exposition précoce à des matrices alimentaires contaminées (HAP, PCB) (aucune rémunération, prise en charge des frais de déplacement)

23^{ème} Annual Meeting of the Society of Environmental Toxicology and Chemistry à Glasgow (2013) Sujet : Short- and long-term behavioral toxicity of an early exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) (poster presentation) (aucune rémunération, prise en charge des frais de déplacement)

14th International Neurotoxicology Association meeting à Egmond aan Zee, Hollande (2013) Sujet : Short- and long-term behavioral toxicity of an early exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) (3 poster presentations) (aucune rémunération, prise en charge des frais de déplacement)

4

Air France : actions

Rexel : actions

Solvay : actions

Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine

POUR LE GROUPE DE TRAVAIL

EL GHISSASSI	Fatiha	21 novembre 2012
Analyse Anses :	<p>1.1 CIRC : professionnelle scientifique (depuis 2002)</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	
FALCY	Michel	6 novembre 2012
Analyse Anses :	<p>1.1 INRS : Adjoint au chef de département Etude et assistance médicale (depuis 1980) AMET : Médecin du travail (depuis 1992)</p> <p>2.2 Ministère de l'environnement : représentant de l'INRS à la Commission des produits chimiques et biocides (rémunération versée à l'INRS) (en cours) Ministère de la Défense : représentant de l'INRS à l'Observatoire de la santé des vétérans (rémunération versée à l'INRS) (en cours) ANSM : expert au groupe de travail Ingrédients cosmétiques (rémunération versée à l'INRS) (depuis 2011)</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	
KAIRO	Cécile	30 novembre 2012
Analyse Anses :	<p>1.1 InVS : chargée de projets scientifiques (depuis 2004)</p> <p>2.2 Anses : GT VTR 1 (rémunération versé au déclarant) (2008-2011)</p> <p>6 Membre de la SFSE (depuis 2011)</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la</p>	

thématique de la saisine	
<p>LAFON Dominique</p> <p>1.1</p> <p>INRS : chargé de mission (depuis 2000)</p> <p>Dassault Falcon service : Médecin du travail (depuis 1995)</p> <p>Archives des maladies professionnelles et de l'environnement (revue) : responsable de rubrique et rédacteur en chef adjoint (depuis 1992)</p> <p>2.2</p> <p>AFSSAPS : expert à la Commission cosmétologie (2010-2012) (aucune rémunération)</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	<p>22 octobre 2012</p>
<p>LE HEGARAT Ludovic</p> <p>1.1</p> <p>ANSES : Chef d'unité adjoint Toxicologie des contaminants au laboratoire de Fougères (depuis 2008)</p> <p>2.2</p> <p>AFSSAPS : Expert Toxicologue au GT substances (rémunération versée au déclarant) (depuis 2010)</p> <p>AFSSAPS : experts Toxicologue au CES Produits de tatouage (aucune rémunération) (depuis 2010)</p> <p>2.4</p> <p>EEMS : IWGT Workshop sur les tests de génotoxicité : Place des cellules HepaRG en toxicologie génétique (aucune rémunération, prise en charge des frais de transport) (août 2009)</p> <p>SFTG : forum annuel : Place des cellules HepaRG en toxicologie génétique (prise en charge des frais de transport) (juin 2009)</p> <p>Workshop HepaRG : Etude de la sensibilité et la spécificité des cellules HepaRG (aucune rémunération, pas de prise en charge des frais de transport)</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	<p>20 décembre 2012</p>
<p>LEBLANC Bernard</p> <p>1.1</p> <p>Novosafe : gérant (depuis 2009)</p> <p>1.2</p>	<p>6 décembre 2012</p>

	<p>Pfizer PGRD : Head, Development and Regulatory Strategy Europe, Drug Safety (1984-2009)</p> <p>4</p> <p>Novosafe : 60% du capital</p> <p>Pfizer : actions</p> <p>5</p> <p>Novosafe</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	
<p>MEEK</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Bette</p> <p>1.1</p> <p>Centre McLaughlin, Université d'Ottawa : Directrice Adjoint Evaluation de risques des produits chimiques (depuis 2010)</p> <p>1.2</p> <p>Santé Canada (2007 à 2010) : échange avec l'Université d'Ottawa</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	<p>31 décembre 2012</p>
<p>MULLOT</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Jean-Ulrich</p> <p>1.1</p> <p>Service de Santé des Armées : pharmacien militaire (depuis 1992)</p> <p>2.2</p> <p>InVS : membre du conseil scientifique de l'étude « Biosurveillance » (aucune rémunération) (depuis 2011)</p> <p>Contrat de baie « Rade de Toulon » : membre du conseil scientifique (aucune rémunération) (depuis 2011)</p> <p>CSTB : membre du conseil scientifique pour l'Observatoire de la qualité de l'air intérieur (aucune rémunération) (depuis 2011)</p> <p>Primequal/Predit : membre du conseil scientifique (aucune rémunération) (depuis 2009)</p> <p>6</p> <p>Représentant français dans un groupe de travail OTAN en rapport avec les risques NRBC - Activité en relation avec mon activité principale (aucune rémunération ou indemnités, défraiement transport/logement uniquement) (depuis 2011)</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la</p>	<p>23 novembre 2012</p>

thématique de la saisine		
OULD-ELKHIM	Mostafa	16 janvier 2013
	<p>1.1</p> <p>ANSM : Toxicologue (depuis 2009)</p> <p>Université de Créteil : enseignements (depuis 2002)</p> <p>1.2</p> <p>Afssa : Toxicologue (1995 – 2009)</p> <p>2.1</p> <p>ANSES - GT VTR II : Expert Toxicologue (aucune rémunération)</p> <p>Commission européenne – GT nanomatériaux dans les produits cosmétiques : expert toxicologue (aucune rémunération)</p> <p>Ministère de l'environnement – Commission des produits chimiques et biocides (2009 – 2012) (aucune rémunération)</p> <p>3</p> <p>Bourse pour une thésarde – ambassade de France au Cambodge (2009 - 2011)</p> <p>5</p> <p>Sanofi-Aventis</p>	
Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine		
ROUDOT	Alain-Claude	04 décembre 2012
	<p>1.1</p> <p>Université de Bretagne occidentale : enseignant chercheur, directeur de laboratoire (depuis 1993)</p> <p>2.2</p> <p>Afssset, Afssa, Afssaps, ANSES : expert (rémunération versée au déclarant) (depuis 2007)</p> <p>2.3</p> <p>Tetrahedron : évaluation de l'exposition (ergothionéine) (rémunération versée au laboratoire universitaire) (2012)</p> <p>2.4</p> <p>Société Française de Toxicologie : la benchmark dose (aucune rémunération, prise en charge des frais de transport) (11/2010)</p> <p>Eurotox : organisateur symposium (aucune</p>	

	<p>rémunération, prise en charge des frais de transport) (08/2011)</p> <p>Analyse Anses : 6</p> <p>Programme de recherche européen 7^e PCRD : échantillonnage en sécurité alimentaire (08/2009- 07/2013)</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</p>	
TOSSA	<p>Mohamed Paul</p> <p>1.1 EDF SA : médecin toxicologue – évaluateur de risques sanitaires (depuis 2012)</p> <p>1.2 CHU de Nancy : médecin toxicologue (2005 à 2012)</p> <p>Analyse Anses : <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i></p>	21 décembre 2012
VINARDELL	<p>Maria Pilar</p> <p>1.1 Université de Barcelone : professeur, directeur du département de physiologie (depuis 1998)</p> <p>2.2 Commission Européenne DG Sanco : expert au Scientific Committee on Consumer Safety (avril 2009 à février 2013)</p> <p>Analyse Anses : <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i></p>	20 décembre 2012

Annexe 2 : Extraits du rapport Vincent Nedellec Conseil

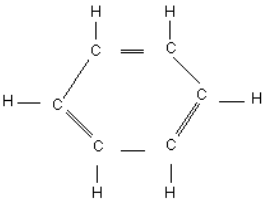
Sommaire

1	Identification de la substance.....	64
1.1	Généralités.....	64
1.2	Propriétés chimiques.....	65
1.3	Plausibilité d'exposition humaine.....	67
2	Synthèse des données toxicologiques du benzène.....	69
2.1	Toxicocinétique.....	69
2.2	Toxicité chez l'Homme.....	71
2.2.1	Toxicité aiguë.....	71
2.2.2	Toxicité chronique.....	72
2.3	Toxicité chez l'animal.....	79
2.3.1	Toxicité aiguë.....	79
2.3.2	Toxicité à doses répétées.....	80
2.3.3	Cancérogénicité.....	89
2.3.4	Génotoxicité.....	94

1 Identification de la substance

1.1 Généralités

Tableau XIV : Identification de la substance

Numéro CAS, EINECS, etc.	N° CASR : 71-43-2 N° ICSC : 0015 N° RTECS : CY1400000 N° CE : 601-020-00-8 N° EINECS : 200-753-7
Nom	Benzène
Synonymes	(6)annulene (GB), 1/c6h6/c1-2-4-6-5-3-1/h1-6 (GB), 174973-66-1 (GB), 26181-88-4 (GB), 27271-55-2 (GB), 54682-86-9 (GB), 71-43-2 (GB), Ai3-0080, Ai3-00808 (GB), Annulene, Aromatic alkane, Bcx-2070 benzene, Benceno, Benxole, Benzeen (dutch), Benzen (polish), Benzène (FR), Benzene (acgih:osha), Benzene acs, Benzene b 411, Benzene fisher, Benzene (un1114), Benzene, Benzin (obs.), Benzine (obs.) (GB), Benzol (GB), Benzol (osha), Benzol 90, Benzol diluent, Benzole, Benzolene, Benzolo, Benzolo (italian), Bicarburet of hydrogen, Bnz, Carbon oil, Caswell no 077, Ccris 70, Chebi:16716 (GB), Coal naphtha, Coaltar naphtha, Cyclohexatriene (GB), 200-753-7 (Einecs), pa pesticide chemical code 008801, Fenzen (czech), Ghl.pd_mitscher_leg0.503 (GB), Gulf 674-000, Gulf benzene, Mineral naphtha, Motor benzol, Nci-c55276, (Furetox). BENZOLE, BENZOLO (ITALIAN), COAL NAPHTHA, BICARBURET OF HYDROGEN, Caswell no 077, CYCLOHEXATRIENE, EPA pesticide chemical code 008801, FENZEN (CZECH), NCI-C55276, PHENE, PHENYL HYDRIDE, Polystream, PYROBENZOL, PYROBENZOLE, AI3-00808, (6)ANNULENE, BENZEEN (DUTCH), BENZEN (POLISH), BENZOL, Benzol 90 (HSDB)
Formule brute	C ₆ H ₆
Formule développée	
Appartenance à une liste de substances classées pour leur potentiel cancérogène (UE, CIRC, US EPA, Santé Canada, NTP)	Classement comme cancérogène certain chez l'Homme : CIRC : Groupe 1 US EPA : Classe A Santé Canada : Groupe 1 RIVM : cancérogène connu chez l'Homme Commission européenne : cancérogène cat. 1, R45

1.2 Propriétés chimiques

Tableau XV : Propriétés chimiques

Forme physique	Liquide incolore (ATSDR) Liquide incolore avec une odeur caractéristique (ICSC) Liquide incolore avec une odeur de diluant de peinture détectable à partir de 12 ppm (chemfinder)
Poids moléculaire (-)	78,11 g.mol ⁻¹ (HSDB, ATSDTR, chemfinder, EHC)
Point d'ébullition (°C)	80,1°C (Chemfinder,HSDB, ATSDTR,) 80°C (ICSC)
Point de fusion (°C)	5,5 °C (chemfinder, HSDB, ATSDR, EHC) 6°C (ICSC)
Pression de vapeur	12.7 kPa à 25 °C (chemfinder) 94.8 mmHg à 25°C (HSDB) 10 kPa at 20°C (ICSC) 75 mmHg à 20°C (ATSDR) 13,3 kPa à 26°C (EHC)
Densité (-)	0,8786 (chemfinder) 0,8787 à 15°C/4°C (HSDB) 0,88 (ICSC) 0,878 (EHC)
Facteurs de conversion	1 ppm=3,26 mg.m ⁻³ à 20 °C et à 1 atm ; 1 mg.m ⁻³ = 0,31 ppm (HSDB)
Solubilité	0,18 g/100 mL (Chemfinder, ICSC) 1,79.10 ³ mg.L ⁻¹ à 25 °C. (HSDB) 0,188% à 25°C (ATSDR) 1800 mg.L ⁻¹ à 25 °C (EHC)
Log Kow⁷ (-),	2,13 (HSDB, ICSC, ATSDR) 2,1 (HHRAP)
Log Koc⁸ (-)	Log Koc = 1,8–1,9 (ATSDR,EHC) Koc= 61,7 mL.g ⁻¹ (HHRAP)
BCF⁹,	1.1-20 (HSDB)

⁷ Log Kow : logarithme du coefficient de partage octanol-eau. Il correspond au ratio entre la concentration de substance dans l'octanol et celle dans l'eau à l'équilibre. Il est corrélé à la solubilité dans l'eau et reflète indirectement les potentiels de bioaccumulation et de bioconcentration d'une substance.

⁸ Koc : coefficient d'absorption sur la matière organique. C'est le ratio entre la quantité de substance adsorbée par le sol par unité de poids de carbone organique et la concentration de la substance en solution, à l'équilibre. Il reflète donc la mobilité de la substance dans les sols.

	<p>< 10 pour les poissons : <i>Leuciscus idus</i> après une exposition de 3 jours</p> <p>< 1 pour les mollusques : <i>Tapes semidecussa</i> après une exposition de 2-8 jours (INERIS)</p> <p>13 (CE).</p> <p>8,26 L.kg⁻¹ (HHRAP)</p>
BAF¹⁰	ND
Produits de dégradation environnementale	<p>de</p> <ul style="list-style-type: none"> • Principaux produits de la photo-oxydation, phénol, nitrophénol, nitrobenzène, glyoxal, succinaldéhyde, formaldéhyde, dioxyde de carbone monoxyde de carbone (Health Canada) • Biodégradation du benzène dans l'eau par une variété de micro-organismes dans des conditions aérobies et anaérobies. Dans les deux conditions, le mécanisme de la biodégradation semble impliquer la formation du catéchol par l'intermédiaire du cis-1,2-dihydroxy-1,2-dihydrobenzène (EHC)

ND = non documenté

⁹ *Bioconcentration factor* : facteur de bioconcentration : c'est le rapport entre la concentration de la substance dans un organisme aquatique et sa concentration dans l'eau. Il exprime donc l'accumulation de la substance dans un organisme aquatique c'est-à-dire la capacité qu'a un organisme (en particulier aquatique) d'extraire et concentrer les substances de l'environnement qui l'entoure (eau).

¹⁰ *Bioaccumulation factor* : facteur de bioaccumulation : la bioaccumulation est la capacité qu'a un organisme (généralement aquatique) d'extraire et concentrer les substances, à la fois directement à partir de l'environnement qui l'entoure (bioconcentration) mais aussi directement à partir de la nourriture.

1.3 Plausibilité d'exposition humaine

Tableau XVI : Exposition humaine

Types d'utilisation	<p>Utilisé comme agent d'extraction dans l'industrie des parfums, ou comme solvant et réactif dans les laboratoires d'analyse et de recherche.</p> <p>Utilisé comme base pour la fabrication des plastiques, du caoutchouc synthétique, des colorants, des résines, des matières premières pour des détergents et des agents de protection des plantes.</p> <p>Utilisation du benzène pour produire de nombreux produits chimiques principalement (CE) :</p> <ul style="list-style-type: none">• le styrène et le polystyrène <i>via</i> l'éthylbenzène. Le polystyrène est employé dans l'industrie d'automobile, dans l'industrie du bâtiment et pour l'emballage. Le styrène est une matière première pour la fabrication du caoutchouc synthétique.• le cumène (dont dérive le phénol) : le phénol sert de matière première pour les fibres synthétiques et dans l'industrie des résines synthétiques et est employé dans la fabrication notamment des résines pour l'industrie de la peinture.• Le cyclohexane : un intermédiaire dans la fabrication du nylon. Le nylon joue un rôle important en tant que fibre synthétique dans la fabrication des textiles, des pneus, du matériel d'emballage etc., mais est également un thermoplastique important.• le nitrobenzène servant de base à la fabrication des colorants azoïques.• Les alkylbenzènes employés dans la fabrication des agents tensio-actifs.• l'anhydride maléique qui sert de base à la fabrication des résines insaturées de polyester et de quelques agents de protection des plantes. Il est également employé dans la fabrication des additifs et des antioxydants d'huile de graissage pour des pétroles et des graisses.• Les chlorobenzènes, sont employés entre autres comme intermédiaires pour la fabrication des agents de protection des plantes, de colorants, des désinfectants et des désodorisants d'air. <p>Au titre des expositions humaines notons que le benzène est naturellement présent dans les carburants à base d'hydrocarbures et dans de nombreux dérivés du pétrole comme les solvants organiques ou les substances complexes provenant</p>
----------------------------	---

	de la houille (INRS). Il est également produit lors de la combustion des hydrocarbures solides, liquides ou gazeux et lors de la combustion de la biomasse végétale.
Restrictions d'usage	Le benzène et les préparations en renfermant plus de 0,1% en poids ne doivent pas être mis à la disposition du public. Les carburants échappent à ces limitations ; Toutefois, la teneur autorisée en benzène dans l'essence sans plomb et le gazole a été réduite de 5% à 1% en volume en 2000. En milieu professionnel, il est interdit d'employer des dissolvants ou diluants renfermant plus de 0,1% en poids de benzène sauf lorsqu'ils sont utilisés en vase clos (INRS).
Tonnages (Europe, France)	Europe de l'Est : 2 340 milliers de tonnes en 1981 Europe de l'Ouest : 3 800 milliers de tonnes en 1981 (RIVM, 1988) 7 247kT/an entre 1994 et 2001 en Europe (CE) (benzène pur) 881,45 kT/an en France (1994-2001) (CE) (benzène pur)
Milieux de rejet dans l'environnement	Air, Eau, Sol, Sédiment, Alimentation (ATSDR)
Vecteurs potentiels d'exposition humaine	principale exposition : inhalation. Expositions moins importantes en termes de prise quotidienne par la population générale: voies cutanées et orales (EHC)
Populations concernées	Professionnelle et générale

2 Synthèse des données toxicologiques du benzène

2.1 Toxicocinétique

Tableau XVII : Toxicocinétique

	Données chez l'animal	Données chez l'Homme
Substance mère	Benzène	Benzène
Absorption voie orale	80% chez le lapin, 97% chez rat et souris (ATSDR)	Pas de données humaines
Absorption voie respiratoire	10 à 33% chez la souris 10 à 50% chez le rat rongeur (ATSDR)	Environ 50% (décroit avec l'augmentation de la concentration et du temps d'exposition) (ATSDR)
Passage percutané	< 1% chez le singe	Benzène liquide : 0,2% Benzène vapeur: 0,05% (ATSDR)
Accumulation (% et organe/tissu cible)	On ne s'attend pas à une accumulation importante de benzène chez aucun organisme terrestre ou aquatique (Santé Canada)	ND
Passage de la BHE¹¹	ND	ND
Passage transplacentaire	Oui (INRS, US EPA)	Oui (EHC)
Passage dans le lait	Oui (INRS)	Oui (INRS)
Sites de métabolisation		Foie principalement

¹¹ BHE : Barrière Hémato-Encéphalique

<p>Voies de métabolisation possibles</p>	<p>Mécanisme similaire à celui de l'Homme (ATSDR)</p>	<p>Première étape : hydroxylation catalysée par le cytochrome P450 2E1 conduisant à la formation d'un benzène-époxyde (en équilibre avec la forme oxépine).</p> <p>Deuxième étape : Principale voie : Réarrangement non enzymatique du benzène-époxyde en phénol. Le phénol peut être oxydé en présence de CYP2E1 en catéchol ou hydroquinone, qui seront oxydés <i>via</i> le myéloperoxydase (MPO) en métabolites réactifs respectivement : 1,2- et 1,4-benzoquinone.</p> <p>Catéchol et hydroquinone peuvent être convertis en 1,2,4-benzenetriol <i>via</i> le CYP2E1. Chaque métabolite phénolique (phénol, catéchol, hydroquinone, 1,2,4-benzenetriol) peut subir une conjugaison sulfonique ou gluconique ou une conjugaison au glutathion pour former un acide S-phénylmercapturique, ou une conversion en acide trans trans muconique <i>via</i> un catalyseur (fer) (ATSDR),</p>
<p>Métabolites principaux</p>	<p>Phénol, Hydroquinone, Catéchol, Hydroxyhydroquinone, Acide phénylmercapturique, phénols sous forme conjugués, acide glucuronique (HSDB)</p>	<p>Phénol, Catechol, hydroquinone, 1,2- et 1,4-benzoquinone (HSDB)</p>

Elimination (voie et% par voie, t_{1/2} plasmatique¹²)	Inhalation : Principale voie d'élimination du benzène non métabolisé : air expiré Principale voie d'excrétion des métabolites du benzène : urine (excrétion fécale très faible) (EHC) Voie orale: Chez le lapin: Benzène non métabolisé dans l'air expiré : 43% , excrétion urinaire : 33% Chez les rats et souris : excrétion des métabolites urinaires 80% de la dose administrée. (EHC) Voie cutanée : Après 48h, Excrétion dans l'urine : 86,2% de la dose initiale Elimination dans l'air expiré : 12,8% (EHC)	Inhalation : idem Proportion du benzène absorbé excrété par l'intermédiaire des poumons : 17% (EHC) Voie orale : ND Voie cutanée : Excrétion urinaire sur 36 h : 0,023% (0,006 à 0,054%). 80% de l'excrétion à lieu à moins de 8 h de l'application (EHC)
Clairance	ND	ND
Biodisponibilité	ND	ND

ND = non documenté

2.2 Toxicité chez l'Homme

2.2.1 Toxicité aiguë

Une exposition à des concentrations en benzène de 64 000 mg.m⁻³ (20 000 ppm) pendant 5 à 10 minutes est fatale. La mort survient par asphyxie, arrêt respiratoire, dépression du système nerveux ou collapsus cardiaque. Les autres signes cliniques d'intoxication aiguë au benzène incluent des signes neurologiques, l'arythmie cardiaque, cyanose, hémolyse, congestion ou hémorragies (ATSDR 2007).

Trois cas d'intoxication aiguë au benzène suite à un accident sur un cargo ont été rapportés. Les concentrations dans l'air de benzène ne sont pas connues. Dans ces trois cas d'accidents mortels, les lésions observées sont des brûlures de la face, du tronc, des membres avec hémorragies et oedème pulmonaire. Des concentrations élevées du benzène ont été trouvées dans le sang (30-120 mg.L⁻¹), la graisse du corps (68 à 120 mg.kg⁻¹) et le

¹² t_{1/2} (temps de demi-vie) : temps nécessaire pour que la concentration C passe à C/2 dans la phase d'élimination

cerveau (58-63 mg.kg⁻¹) et des concentrations plus faibles dans le foie (15-38 mg.kg⁻¹) des trois victimes.

Les données existantes sur les accidents humains démontrent que l'ingestion de 15 mL de benzène peut causer la mort après un collapsus, une bronchite et une pneumonie. Ainsi, le benzène est classé comme « nocif » : il est étiqueté « R 65 » (CE, 1999).

2.2.1.1 Irritation

Des concentrations élevées de benzène dans l'air entraînent une irritation des muqueuses des yeux, du nez, et du tractus respiratoire. Le contact direct de la peau avec du benzène liquide peut causer un érythème. Le contact cutané peut entraîner une dermatite sèche et squameuse si l'exposition est répétée ou prolongée. Dans un rapport sur trois morts dues à une intoxication aiguë aux vapeurs de benzène par expositions cutanée et respiratoire, des brûlures au deuxième degré au visage, au tronc et aux membres ont été rapportées. Des irritations de la peau ont été notées pour des expositions professionnelles au benzène à des niveaux atmosphériques supérieurs à 60 ppm pendant une durée supérieures à 3 semaines (ATSDR, 2007).

2.2.1.2 Sensibilisation

Il n'y a pas de données humaines sur la sensibilisation de la peau ou l'allergie respiratoire provoquée par le benzène. Tenant compte de plus de 100 années d'expérience humaine d'utilisation de ce solvant, on peut supposer que la sensibilisation de la peau ou l'allergie respiratoire ne sont pas des risques attendus lors de la manipulation du benzène (CE, 1998).

2.2.2 Toxicité chronique

2.2.2.1 Effets hématologiques

Plusieurs études transversales ou de séries de cas ont rapporté qu'une exposition à des niveaux élevés de benzène (habituellement supérieure à 320 mg.m⁻³ (100 ppm) a pour conséquence de sévères effets hématologiques tels qu'une pancytopenie¹³ et une anémie aplasique¹⁴. Les relations doses-réponses n'ont pas été estimées dans ces études. Les

¹³ Une pancytopenie est définie par l'association d'une anémie, d'une thrombopénie et d'une neutropénie. Il s'agit d'un déficit des trois lignées myéloïdes.

¹⁴ L'anémie aplasique - ou aplastique - survient quand la moelle osseuse ne produit plus assez de cellules souches. Ou, celles-ci sont à l'origine de toutes les cellules sanguines, dont les trois types sont : globules rouges, globules blancs et plaquettes. L'anémie aplasique provoque donc trois catégories de symptômes :

- d'abord, ceux qui sont communs aux différents types d'anémie, soit les signes d'une diminution en globules rouges et donc d'un transport déficient de l'oxygène ;
- ensuite, les symptômes associés au manque de globules blancs (vulnérabilité aux infections) ;

niveaux précis du benzène associés aux effets hématologiques les plus graves (c'est-à-dire la pancytopenie, l'anémie aplasique) sont quelques peu incertains. Certaines de ces études mettent en évidence les paramètres hématologiques affectés par le benzène mais ne sont pas utiles pour déterminer une LOAEC ou un NOAEC. Finalement, la NOAEC a été déterminée à partir des études d'expositions à des niveaux relativement faibles de benzène et au cours desquelles les effets hématologiques moins graves ont été notés (CE, 1998).

Aksoy *et al.* en 1971, ont examiné 217 hommes travaillant dans l'industrie de la chaussure et exposés à des niveaux atmosphériques de benzène compris entre 30 ppm (96 mg.m⁻³) et 200 ppm (682 mg.m⁻³) pendant plus de 17 ans. Des anomalies hématologiques sont observées chez 51 travailleurs (23,5%) incluant 6 cas de pancytopenie et aucun cas d'anémie aplasique. La sévérité des effets hématologiques n'est pas corrélée avec la durée d'exposition. La thrombocytopénie (c'est-à-dire la réduction du nombre de plaquettes) est le risque chronique lié à une exposition au benzène le plus fréquent (CE, 1998).

En 1972, Aksoy *et al.* rapportent 32 cas d'anémie aplasique chez des hommes travaillant dans l'industrie de la chaussure en Turquie, exposés à des niveaux élevés de benzène non précisés pendant une période comprise entre 4 mois et 15 ans. Dans une revue de la littérature publiée aux Etats-Unis, on rapporte 880 cas de cytopénie¹⁵ ou de pancytopenie et 101 cas d'anémie aplasique. L'exposition, dans la plupart des cas, a été estimée supérieure à 320 mg.m⁻³ (100 ppm) (CE, 1998).

Les résultats des études à de faibles niveaux d'exposition sont présentés dans le **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**

Les études de Yin *et al.* et de Kipen *et al.* ont montré une corrélation entre la prévalence des cas de leucopénie et les concentrations de benzène. La LOAEC associée à la leucopénie est comprise entre 40 mg.m⁻³ (12,5 ppm) et 64 mg.m⁻³. La prévalence de la leucopénie est plus élevée pour des expositions à des niveaux de benzène supérieurs à 320 mg.m⁻³ (100 ppm). Les études cas témoin de Rothman *et al.* (1996) et de Dosemeci *et al.* (1997) ont montré que la réaction la plus sensible chez l'homme à une exposition chronique au benzène est la lymphopénie. Les données montrent que les ouvriers exposés à des niveaux de concentrations compris entre 1 et 31 ppm (3 à 100 mg.m⁻³) présentent une réduction

-
- et enfin, au manque de plaquettes sanguines (troubles de coagulation).

¹⁵ La cytopénie est une déficience en cellules sanguines. Par exemple, dans le syndrome myélodysplasique, des anomalies interviennent au sein de la moelle osseuse. Ceci entraîne des altérations de la quantité de chacun des éléments obtenus c'est-à-dire globules rouges, globules blancs et plaquettes. Altérations qui portent le nom de cytopénies, cytopénie de la lignée érythroïdique ou cytopénie au cours de l'érythropoïèse (formation des globules rouges) cytopénie de la leucopoïèse (formation des globules blancs) et cytopénie de la thrombopoïèse (formation des plaquettes).

significative de leur nombre de lymphocytes comparé à une cohorte de travailleurs non exposés. Ainsi, pour la réduction des lymphocytes, une LOAEC global de 32 mg.m⁻³ (10 ppm) a été suggérée. Une NOAEC associée à la dépression des lymphocytes de 1 ppm a été dérivée (CE, 2003). En conclusion, le rapport de la commission européenne indique une NOAEC pour les effets du benzène de 3,2 mg.m⁻³ (1 ppm) (CE, 1998).

En revanche, l'US EPA et l'ATSDR, dans leur revue toxicologique sur le benzène, retiennent une LOAEC de 7,6 ppm (ATSDR, 2007 ; US EPA, 2003). Une réduction significative du nombre absolu de lymphocyte a été observée dans le sous groupe exposé à un niveau médian de benzène de 7,6 ppm (ATSDR, 2007 ; US EPA, 2003).

Aucune donnée humaine n'est disponible pour évaluer les effets hématologiques suite à une exposition orale au benzène (ATSDR, 2007).

2.2.2.2 Effets neurologiques

Les études investiguant les effets neurologiques liés à une exposition chronique sont peu nombreuses et manquent d'information sur l'intensité et la durée d'exposition du benzène. Ainsi, la commission européenne conclut en 2003 qu'il est actuellement impossible d'effectuer une évaluation des risques neurologiques (CE, 2003). Néanmoins, les résultats laissent penser avec peu de doute que le benzène affecte aussi bien le système nerveux central que celui périphérique.

Les effets d'une exposition chronique au benzène ont été étudiés chez 121 travailleurs exposés au benzène pendant 2 à 9 ans. La concentration dans l'air de benzène entre 1962 et 1965 était de 6–15,6 ppm (20–50 mg.m⁻³), tandis que la concentration de toluène n'excédait pas 5 mg.m⁻³. Plus tard, les niveaux atmosphériques de benzène et de toluène n'ont pas dépassé 5 mg.m⁻³. 74 travailleurs examinés se sont plaints de fréquents maux de tête, de perte de mémoire, de fatigue et de difficultés pour dormir. Cette étude présente des limites : exposition à deux substances, manque d'information sur les doses et durées d'exposition.

Herregods *et al.* ont diagnostiqué une myélite transverse¹⁶ chez un jeune homme exposé quotidiennement au benzène en travaillant dans l'entrepôt d'un fournisseur de produits chimiques et de produits pharmaceutiques. La durée de l'exposition n'a pas été indiquée par les auteurs (Herregods *et al.*, 1984).

¹⁶ La myélite transverse (MT) est un syndrome neurologique causé par l'inflammation de la moelle épinière. La MT est peu commune, mais pas rare. Les estimations de son incidence par année varient de 1 à 5 cas par million dans la population générale (Jeffery *et al.*, 1993). Le terme de myélite est un terme non-spécifique pour toute inflammation de la moelle épinière ; transverse se réfère au fait que cela concerne un niveau de la moelle épinière.

Baslo et Aksoy ont conduit des examens neurologiques sur 8 patients exposés au benzène et présentant soit une anémie aplasique (cas 1-6) soit une préleucémie (cas 7 et 8) (Baslo et Aksoy, 1982). Les concentrations de benzène dans leur environnement de travail pouvaient atteindre 210 ppm (671 mg.m⁻³). La durée d'exposition des 6 patients présentant une anémie aplasique était comprise entre 6 mois et 8 ans. Les 2 patients présentant une préleucémie (cas 7 et 8) ont été exposés respectivement 15 et 10 ans. Les résultats des tests neurologiques ont montré notamment que les cas 1, 2, 3, et 8 présentaient des symptômes neurologiques tels qu'une diminution de la perception sensorielle et une atrophie des jambes. Cette étude est basée sur un nombre restreint de patients, manque de paramètre d'exposition et n'élimine pas la possibilité que les travailleurs aient été exposés à d'autres produits chimiques que le benzène et le toluène. Une LOAEC ou une NOAEC fiable n'a donc pas pu être déterminée.

Tableau XVIII : Données humaines sur les effets hématologiques liés à une exposition à un niveau faible de benzène

Auteurs	Taille de l'échantillon n	Caractéristiques de l'exposition	Paramètre critique	Commentaires	LOAEC (ppm)	NOAEC (ppm)
Kipen <i>et al.</i> , 1988 et 1989	264	35-137ppm (moyenne=75 ppm) ; 15-20 ppm (1940-48)	WBC, RBC (Crump)	Corrélation significative entre l'exposition (moyenne annuelle) et les paramètres sanguins	75	15-20
			WBC, RBC (Rinsky)		(35-137)	6-19
Fishbeck <i>et al.</i> , 1978	10		RBC, Hb	Petit échantillon	35	<10
			WBC		-	35
Tsai <i>et al.</i> , 1983	303	< 5 ppm	WBC, lymphocytes, RBC, plaquettes, Hb, Hct	96% de l'échantillon total est exposé à un niveau < 5 ppm	-	< 5
Hancock et Moffitt, 1984	70 exposés, 21 témoins	Moyenne de 10,5 ppm	RBC, WBC, Hb	La moyenne des expositions peut limiter la capacité à détecter des effets passagers de expositions élevées	-	10
Yardley-Jones <i>et al.</i> , 1988	66 exposés, 33 témoins	<1-10 ppm	Hb MCV	Niveaux occasionnels de 100 ppm (durée non spécifiée) Résultats statistiquement significatifs	< 1-10	<1- 10
Collins <i>et al.</i> , 1991	200 exposés, 268 témoins	0,01-1,4 ppm	RBC, WBC, Hb, Plaquettes MCV	Analyse multi-variée bien contrôlée Résultats statistiquement significatif jugé par l'auteur comme cliniquement non significatif		0,01-1,4
Chang, 1972	119	10-20 ppm	WBC, RBC	Ouvriers étudiés non spécifiés	-	10-20
Doskin, 1971	365	10-40 ppm	Plaquettes	Données d'exposition succinctes	10-40	-
Rothman <i>et al.</i> , 1996a	44	1-328 ppm	WBC, Lymphocytes, plaquettes , MCV	Etude cas témoins, expositions > 31 ppm versus < 31 ppm	-	1
Rothman <i>et al.</i> , 1996b	44	1-328 ppm	GPA fréquence de mutation des cellules somatiques	Etude cas témoin	-	1

Dosemeci <i>et al.</i> , 1997	44	1- > 400 ppm	Risque relatif (RR)	Augmentation du RR de 1 (pour une exposition < 5ppm) à 2,2 (pour une exposition de 5-19 ppm)	< 5
Dosemeci <i>et al.</i> , 1997, Rotman <i>et al.</i> , 1996a/b		< 31 ppm (médiane 13,6 ppm)	WBC, nombre de lymphocytes et de plaquettes	Diminution significative	-
		1-20 ppm, médiane 7,6 ppm	Nombre de lymphocytes	Diminution significative	-
		< 5 ppm	Risque relatif (RR)	Augmentation de 1 à 2,2	1

WBC : White Blood cell (globule blanc) ; RBC : Red Blood cell (globule rouge), Hb : hemoglobine, MCV : Mean Cell Volume (volume moyen de la cellule) ; GPA : « glycophorin A »

2.2.2.3 Effets sur la reproduction

Les données relatives aux effets sur la reproduction d'une exposition professionnelle au benzène indiquent que cette substance a le potentiel pour altérer la fertilité chez les femmes. Cependant, selon les conclusions de la commission européenne et de l'ATSDR, les résultats sont peu concluants les études étant limitées (CE, 2003 ; ATSDR, 2007).

Dans une étude, 30 femmes présentant des symptômes de la toxicité du benzène ont été examinées. Elles travaillaient dans une atmosphère contenant du benzène. ; Cependant, les niveaux du benzène dans l'air n'étaient pas connus. Toutefois, ils étaient supérieurs à 1 ppm. Douze de ces femmes ont présenté des troubles menstruels et quatre une leucopénie. Chez la majorité des femmes, les nombres de neutrophiles et de plaquettes ont été également réduits. Parmi les 10 femmes mariées, deux ont subi des avortements spontanés. Il n'y a eu aucune naissance bien qu'aucune mesure contraceptive n'ait été prise. Ces résultats suggèrent qu'une exposition au benzène à des niveaux élevés pourrait altérer la fertilité. Cependant, lors de cette étude, les auteurs n'ont pas vérifié si l'absence de naissance n'était pas due à l'infertilité. Les examens gynécologiques ont indiqué que les faibles menstruations de cinq des femmes étaient dues à une atrophie ovarienne. Cette étude comporte des limites : absence de groupe témoin, manque de suivi (ATSDR, 2007).

Aucune étude chez l'homme n'a investigué les effets sur la reproduction liés à une exposition au benzène par voies inhalée, orale et cutanée (ATSDR, 2007).

Les résultats des études effectuées chez les femmes ne sont pas suffisants pour démontrer une relation causale entre l'exposition au benzène et les effets sur la reproduction notamment car les niveaux d'exposition au benzène sont insuffisamment mesurés et les sujets sont exposés à d'autres produits chimiques (US EPA,2002).

2.2.2.4 Effets sur le développement

Les données disponibles sur les effets d'une exposition au benzène sur le développement chez l'Homme sont également limitées et peu concluantes (ATSDR, 2007). Elles sont limitées en raison notamment d'un manque d'information sur les niveaux d'exposition, et/ou d'une exposition à de multiples substances.

Une étude a été conduite dans le secteur « Love Canal » situé à New York aux Etats-Unis, auprès des populations vivant à proximité de sites de déchets sur lesquels ont été identifiés au moins 248 produits chimiques dont le benzène. Aucune augmentation claire de l'occurrence d'avortements spontanés, d'anomalies à la naissance ou de bas poids infantile à la naissance chez les femmes vivant à côté du canal n'a été observée. Cette étude comporte des limites : la dimension de l'échantillon et le manque de connaissance de l'historique des expositions ce qui ne permet pas d'évaluer significativement ces résultats.

Dans une autre étude effectuée par Goldman *et al.* sur ce même secteur, le poids à la naissance a été évalué chez 239 enfants en bas âge exposés pendant la vie de gestation (ATSDR, 2007). Il a été observé une association entre le faible poids à la naissance et une exposition aux déchets dangereux. Cependant, cette étude présente des problèmes du point de vue de sa conception et de la méthodologie utilisée. Par exemple, un des groupes d'étude était composé de locataires à faible revenu et d'individus principalement afro-américains. Cette étude n'a pas inclus 235 familles qui avaient été évacuées de ce secteur. Cependant, la significativité de ces résultats ne peut pas être évaluée en raison de défaillance méthodologique comprenant une dimension inadéquate de l'échantillon et l'absence de mesure des niveaux d'exposition.

Une étude toxicocinétique a montré que le benzène passe la barrière placentaire humaine et est retrouvée dans le sang du cordon à des niveaux supérieurs ou égaux à ceux dans le sang maternel (ATSDR, 2007).

Dans une autre étude, des fréquences accrues de coupures de chromosomes et d'échange de chromatides sœurs ont été observés dans les lymphocytes de 14 enfants nés de mères exposées par inhalation au benzène et à d'autres solvants durant sa grossesse. Aucune étude n'a investigué les effets sur le développement lié à une exposition au benzène par voies orale et cutanée (ATSDR, 2007).

2.2.2.5 Effets immunologiques

Des effets immunologiques ont été rapportés lors d'expositions professionnelles. Le benzène endommage l'immunité humorale et cellulaire (ATSDR, 2007). L'altération de l'immunité humorale qui signifie que le benzène modifie les niveaux d'anticorps dans le sang. Dans une étude, des peintres exposés professionnellement à des niveaux de benzène de 3-7 ppm ainsi qu'au toluène et au xylène pendant 1 à 21 ans montrent une augmentation des teneurs en immunoglobulines (IgM) et une diminution des IgG et IgA. La diminution de ces niveaux d'immunoglobulines indique la suppression, par le benzène ou ses métabolites, des cellules produisant les immunoglobulines. D'autre part, le benzène altère l'immunité cellulaire c'est à dire qu'il affecte la circulation des leucocytes et une sous catégorie de leucocytes appelés lymphocytes (ATSDR, 2007). Des cas de leucopénies ont été rapportés dans une série d'études effectuées chez les travailleurs exposés au benzène à des niveaux compris entre 15 et 210 ppm dans différentes industries. D'autres études chez des travailleurs ont aussi rapporté des pertes de lymphocytes et d'autres éléments du sang.

2.3 Toxicité chez l'animal

2.3.1 Toxicité aiguë

La toxicité aiguë du benzène a été testée chez le rat, la souris, le lapin et le cobaye. Les voies orale, respiratoire, intrapéritonéale et cutanée ont été investiguées (ATSDR, 2007).

Chez le rat, la DL_{50} par voie orale est estimée comme étant supérieure à 810 mg.kg^{-1} de poids corporel. La mort des animaux avait été observée pour des doses de $1\,870 \text{ mg.kg}^{-1}$ de poids corporel pour une exposition de 20 minutes. Le DL_{50} estimées par Smith *et al.* et par Withey et Hall sont respectivement de $10\,000 \text{ mg.kg pc}^{-1}$ et de $5\,960 \text{ mg.kg pc}^{-1}$. Kimura *et al.* ont estimé une DL_{50} de $3\,400 \text{ mg.kg}^{-1}$ chez des rats âgés de 14 jours, de $3\,800 \text{ mg.kg}^{-1}$ chez des jeunes rats adultes et de $5\,600 \text{ mg.kg}^{-1}$ chez des rats âgés. Et enfin Wolf *et al.* ont estimé une DL_{50} de $5\,600 \text{ mg.kg pc}^{-1}$ chez des rats mâles (ATSDR, 2007).

Par inhalation, la LC_{50} a été estimée à $13\,700 \text{ ppm}$ ($44,5 \text{ mg.L}^{-1}$) chez des rats femelles exposées pendant 4 heures et de $10\,450 \text{ ppm}$ ($33,3 \text{ mg.L}^{-1}$) chez des souris exposées pendant 7 heures. Les signes cliniques étaient l'agitation, les tremblements musculaires, les changements de respiration, l'incoordination et une narcose. La congestion des poumons et du foie sont les principaux résultats pathologiques (ATSDR, 2007).

Chez le lapin et le cobaye, la DL_{50} par voie cutanée a été estimée supérieure à $8\,260 \text{ g.kg pc}^{-1}$ (ATSDR, 2007).

La LD_{50} par voie intrapéritonéale est de $2\,940 \text{ mg.kg pc}^{-1}$ chez les rats et de $300 \text{ mg.kg pc}^{-1}$ chez les souris (ATSDR, 2007).

2.3.2 Toxicité à doses répétées

2.3.2.1 Effets sur l'hématopoïèse

Les études concernant la toxicité du benzène à doses répétées sont nombreuses. Un tableau de synthèse (cf. **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**) présente les études ainsi que les informations clés (espèces, voie d'exposition, durée, NOAEC / LOAEC, effets toxiques, sources) telles que recensées par l'ATSDR en 2007.

Chez la souris, quelle que soit la voie d'administration, le système hématopoïétique est l'organe cible des effets du benzène. Les expositions répétées induisent des altérations dès les concentrations de 10 ppm (32 mg.m^{-3}) par inhalation ou de $25 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ par voie orale.

Dans les études par expositions réitérées chez la souris, le benzène induit de manière dose-dépendante des lymphocytopenies, des leucopénies pour une exposition de 14 jours à 50 ppm , des anémies plutôt de type macrocytaire et hypochrome. Diverses études ont également indiqué qu'une exposition prolongée au benzène entraîne une diminution du nombre de cellules souches hématopoïétique. L'altération qualitative des cellules souches de la moelle osseuse semble être un paramètre plus sensible que l'altération quantitative dans l'identification des effets induits par le benzène.

Aucun effet sur la lignée des cellules érythrocytaires n'a été observé chez le rat après une administration de benzène par voie orale ou par inhalation. Des comptes réduits de globules blancs ont été corrélés avec une plus grande activité de l'activité des phosphatases alcalines leucocytaires (LAP), proposée comme un paramètre utile pour évaluer l'empoisonnement chronique de benzène chez les rats et les humains.

Des études dose-réponse telles que celle de Ward *et al* ont permis d'identifier une NOAEC et une LOAEC. Dans cette étude subchronique, les auteurs examinent le sang périphérique et la moelle osseuse de souris et de rats Sprague-Dawley, mâles et femelles, exposés à des niveaux de benzène de 0, 1, 10, 30, ou 300 ppm (0 - 3,2 - 32 - 96 ou 958 mg.m⁻³), 6 heures par jour, 5 jours par semaine pendant plus de 13 semaines. Des effets hématologiques ne sont pas observés chez aucune des espèces à des niveaux d'exposition de 1 à 30 ppm. Les souris exposés à 300 ppm pendant 90 jours présentent une réduction de la concentration d'hémoglobines, des nombres de globules rouges et blancs, de plaquettes, du pourcentage de lymphocytes et des ratios lignée myéloïde / lignée érythroïde. Plusieurs de ces effets sont apparus dès le quatorzième jour et ont persisté durant l'exposition mais leur sévérité n'a pas augmenté avec la durée de l'exposition. Les rats, moins sévèrement affectés présentent à 300 ppm une diminution du nombre de globules blancs et une diminution des cellules fémorales de la moelle osseuse (CE, 2003). Les auteurs concluent que les effets hématologiques observés dans cette étude sont similaires à ceux reportés par d'autres auteurs. Cette expérience fournit une LOAEC de 300 ppm et une NOAEC de 30 ppm associée aux anomalies du sang périphérique chez la souris et le rat. Le grand nombre d'animaux utilisés (50 rats mâles, 50 rats femelles, 150 souris mâles, 150 souris femelles) dans cette étude et l'évaluation de plusieurs paramètres relatifs à l'hématotoxicité renforcent les conclusions des auteurs. Les données de cette étude ont servi de base pour construire une BMC. La BMC dérivée de ce modèle a servi comme point de départ pour déterminer les valeurs de la VTR de l'US EPA (US EPA, 2003). Elle est en accord avec la VTR obtenue à partir des données de l'étude d'exposition professionnelle de Rothman *et al*

Une administration orale d'une dose de benzène chez les rats et les souris supérieure ou égale à 35 mg.kg⁻¹ pendant 2 ans a pour conséquence une leucopénie et une lymphocytopénie chez ces deux espèces (NTP, 1986). Le LOAEL identifié pour les effets hématologiques (et immunologiques) chez les rats et les souris dans cette étude (25 mg.kg⁻¹.j⁻¹) est plus élevé que le LOAEL identifié dans les études subaiguës chez les souris (RIVM, 2001). L'exposition de souris à des doses de 0, 8, 40, 180 mg.kg⁻¹.j⁻¹ *via* l'eau de boisson pendant 4 semaines induit d'une manière dose dépendante des effets hématologiques (érythrocytopénie, leucocytopénie, lymphocytopénie et augmentation volume moyen des cellules). Le LOAEL pour les effets subaigus hématologiques et immunologiques chez les souris est de 8 mg.kg⁻¹.j⁻¹.

Tableau XIX : Résumé des études de toxicité à doses répétées – Effets hématologiques

EXPOSITION PAR INHALATION							
Espèces	Type d'études	Protocole	NOAEC ppm	LOAEC ppm	Effet observé	Etude	
Souris/ (mâle)	DBA/2J	Court terme	10, 30, 100 ppm	6 heures/jour, 5 jours	10	↓ nombre de précurseurs érythroïdes	Dempster et Snyder, 1990
Souris/ (mâle)	C57B1/6J	Court terme	10, 31, 100 ppm	6 heures/jour, 6 jours	10	↓ nombre de lymphocytes	Rozen <i>et al.</i> , 1984
Souris/ (mâle)	BALB/c	Court terme	50, 200 ppm,	6 h/j, 7 ou 14 j	50	Faible poids de la rate et du thymus, ↓ nombre de WBC, lymphocytes B et T dans le sang et la rate	Aoyama <i>et al.</i> , 1986
Souris/ mâle	NMRI/	Court terme	En continu : 24 h/j : 1, 10, 21, 50, 95 ppm, 4-10 j		10	21 ↓ nombre de cellules de la moelle osseuse, ↑ nombre de MN PCE	Toft <i>et al.</i> , 1982
			14 ppm, 1-8 semaines			14 ↑ nombre de MN PCE dans la moelle	
			Par intermittence : 8 h/j : 1, 10.5, 21, 50, 95, 107 ppm, 5 j/s, 2 semaines		10,5	21 ↑ nombre de MN PCE dans la moelle osseuse	
			14 ppm, 1-8 semaines		14	-	
Souris/BNL	B57B1/6	Court terme	10, 25, 100, 400 ppm	6 h/j, 5j/s 2 semaines	10	25 ↓ nombre de lymphocytes	Cronkite <i>et al.</i> , 1985
Souris Webster et C57B1/6J (males)	Swiss	Court terme	300 ppm,	6 h/j, 4j/s, 2 semaines		300 ↓ nombre de cellules de la moelle osseuse et développement de CFU-E	Neun <i>et al.</i> , 1992
Souris (mâles)	C5B1/6	Subchronique	1000, 2000, 4000 ppm,	6 h/j, 5 j/sem, 6sem		100 ↓ nombre des WBC	Gill <i>et al.</i> , 1980
		Court terme	100, 500, 1000, 2000, 4000 ppm,	24 h/j, 8 j		> 2 000 ppm : morts dans les 24 heures 500 et 1000 ppm : morts au cours des 3-4 j, début ↓ nombre de WBC après 24h 100 ppm : ↓ nombre de WBC après 24h	

Souris B6C3F1/CrIBR (mâles)	Court terme/ subchronique	1, 10, 100, 200 ppm, 6 h/j, 5j/s, 10 1,2,4, 8 semaines	100	↓ nombre et% de PCE, RBC, ↓ nombre de plaquettes et des WBC	Farris <i>et al.</i> , 1997
Souris/Stoner (mâles)	Hale BNL Subchronique	400 ppm, 6 h/j, 5j /s, > à 65 j et 14 jours de rétablissements	400	↓ nombre de RBC périphériques et de WBC	Cronkite <i>et al.</i> , 1982
Souris B57B1/BNL	6 Subchronique	300 ppm, 6 h/j, 5 j/s 2,4,8,16 semaines	300	↓ nombre de cellules de tiges pluripotentes dans la moelle osseuse	Cronkite <i>et al.</i> , 1985
Souris femelle	BDF1 Subchronique	100, 300, 900 ppm, 6h/j , 5 j/s, supérieure à 16 semaines	100	↓ nombre de CFU-E dans la moelle osseuse	Seidel <i>et al.</i> , 1989
Souris (mâles)	CD-1 Court Terme	1.1, 10, 100, 306, 603, 1276, 2416, 4862 ppm, 6 h/j, 5 j	100	↑ poids de la rate, ↓ nombre de WBC, des lymphocytes, PMN dans le sang périphérique	Green <i>et al.</i> , 1981a,b
		9.6 ppm 6h/j, 5 j/s, 50 jours	9,6	↑ poids de la rate	
	Subchronique	302 ppm , 6 h/j, 5 j/s, 26 semaines	302	Faible poids de la rate, ↓ nombre de WBC et RBC,% de lymphocytes	
Souris BNL	CBA/Ca Sub chronique/ court terme	316 ppm, 6 h/j, 5j/s, 19 j ou 3000 ppm 6 h/j, 2 j	316	Pour les deux doses: ↓ non réversible nombre de WBC, des lymphocytes, des neutrophiles au delà de 214 j après exposition (sauf pour les neutrophiles dans le groupe exposé à 3000 ppm)	Cronkite <i>et al.</i> , 1989
souris/C57B1/ (males)	6J Subchronique	10 ppm (32mg/m3) 6h/j, 5j/s > 178 j	10	↓ nombre de RBC, lymphocytes et des globules rouges nucléées spléniques	Baarson <i>et al.</i> , 1984
Souris CD-1	subchronique	1, 10, 30, 300 ppm ; 6h/j, 5j/s >13 semaines	300	↓ nombre de RBC, WBC, lymphocytes, hémoglobine, plaquettes et ↑ nombre de MCV, MCH, altérations morphologiques des globules rouges	Ward <i>et al.</i> , 1985

Souris DBA/2	subchronique	300 ppm 6 h/j, 13 s, 3 j/s ou 5j/s	300	↑ fréquence des MN PCE et MN-NCE	Luke <i>et al.</i> , 1988a
Souris C57b1/6J (mâles)	subchronique	300 ppm 6 h/j, 5 j/s, 6, 30, 115 j	300	↓ poids du thymus et de la rate, ↓ nombre de cellules nucléées de moelle osseuse, thymus et rate	Rozen & Snyder 1985
Souris/ mâles	AKR/J chronique	100 ppm vie entière	100	Lymphopénie, faible RBC, hypoplasie de la moelle osseuse, tendance à la neutrophilie	Snyder <i>et al.</i> , 1980
C57B1/ 6J (mâle)		300 ppm vie entière		↓ gain de poids, ↓ RBC, Lymphopénie, neutrophilie	
Souris / CD-1 (mâle)	Chronique	300 ppm, 6 h/j, 5j/s, interruption de 2 semaines, jusqu'à la mort	300	Anémie, lymphocytopénie persistente	Snyder <i>et al.</i> , 1988
Souris (mâle)	Kumming subchronique	0.78, 3.13, 12.52 ppm, 2h/j, 30 j	3,13 12,52	↓ nombre de cellules de la moelle osseuse	Li <i>et al.</i> , 1992
Rat/Wistar (femelle)	Court Terme	20, 50, 100 et 300 ppm, 8h/j, 7j	50 100	↑ activité des LAP, ↓ nombre de WBC, ↓ gain du poids	Li <i>et al.</i> , 1986
Rat	subchronique	14.6 mg/L, 4 h/j, 6j/s, 20 s	14.6 mg.L ⁻¹	↑ activité des leucocytes alcalins, ↓ nombre WBC	Songnian <i>et al.</i> , 1982
Rat/ Dawley (male)	Sprague subchronique	30, 200, 400 ppm, 6h/j, 5j/s, 2 ou 4 s	400	400 ppm/ 2 semaines: ↓ des lymphocytes B splénique 400 ppm/4 semaines: ↓ des lymphocytes B et T	Robinson <i>et al.</i> , 1997
Rat/ Dawley (male)	Sprague subchronique	1,10, 30, 300 ppm, 6h/j, 5j/s, > 13 semaines	300	↓ nombre de WBC,% de lymphocytes, des cellules fémorales	Ward <i>et al.</i> , 1985
Rat/ Dawley (male)	Sprague Subchronique	5 h/j, 4 j/s: 46 j/831 ppm - 39 j/65 ppm - 154 j/15 ppm	15	Leucopénie	Deichman <i>et al.</i> , 1963

EXPOSITION ORALE

Espèces	Type d'études	Protocole	NOAEL mg/kg/j	LOAEL mg/kg/j	Effet observé	Etude
Souris/ (male)	CD-1 Subchronique	8, 40, 180 semaines	4	8	↓ nombre de RBC, lymphocytes	Hsieh <i>et al.</i> , 1988, 1991
Souris/BC6C3F1	Subchronique	25, 50, 100, 200, 600, mg/kg/j, 60 j ou 17 semaines	25	50	Leucocytopénie, lymphocytopénie chez les mâles	NTP, 1986, Huff, 1989
Souris/BC6C3F1	Chronique	25, 50, 100 mg/kg/j, 51 et 103 sem.		25 (femelle)	Leucocytopénie, lymphocytopénie	NTP, 1986, Huff, 1989
Rat/Fisher-344	Subchronique	25, 50, 100, 200, 400, 600, mg/kg/j 60 j ou 17 sem.	100 (mâle)	25 (femelle)	Leucocytopénie, lymphocytopénie	NTP, 1986, Huff, 1989
Rat/Fisher-344	Chronique	25, 50, 100 mg/kg/j (femelles) 50, 100, 200 mg/kg/j (mâles) 51 et 103 semaines		200 (mâle) 25 (femelle) 50 (mâle)	Leucocytopénie, lymphocytopénie	NTP, 1986, Huff, 1989

EXPOSITION SUBCUTANEE

Souris (sexe ?)	Balb/c Court terme	800 mg/kg/j 3j		800	↓ nombre des cellules de la moelle osseuse	Laskin <i>et al.</i> , 1989
Lapin (sexe ?)	Court terme	0.25, 0.5 mg/kg/j, 10 j		0,5	Lymphocytopénie	Irons et Moore, 1980

EXPOSITION INTRAPERITONALE

Souris C57B1/6J (mâle)	Court terme	600 mg/kg/j, 2 fois par jour, 2j	600	↓ nombre des cellules nucléées de la moelle osseuse	Niculescu et Kalf, 1995
---------------------------	----------------	----------------------------------	-----	---	----------------------------

CFU-E: Colonie formant unité-Erythroïde, LAP : Phosphatases Alcalines Leucocytaires, MCV : Volume moyen de la cellule MN-PCE: Erythrocytes Polychromatiques micro nucléés, PCE: Erythrocyte/ Réticulocyte polychromatique, RBC : Globules rouges, WBC : Globules blancs

2.3.2.2 Effets neurologiques

Par inhalation, le benzène induit des effets neurologiques : ralentissement de la transmission de l'influx cérébral chez le rat et la souris, diminution des réflexes involontaires et déclenchement d'une narcose chez le lapin (Carpenter, 1944).

Chez la souris mâle, une inhalation de benzène, 2 heures par jour, 6 jours par semaine pendant 30 jours à une concentration de 0,78, 3,13 et 12,52 ppm (2,53, 10 et 41 mg.m⁻³) induit une augmentation significative de la contraction des membres antérieurs dès 0,78 ppm (2,53 mg.m⁻³) puis une diminution de ces effets aux concentrations supérieures. Dans cette même étude, une diminution de l'activité de l'acétylcholinestérase cérébrale a été notée.

Des effets neurologiques sont observés chez la souris lors d'une exposition par voie orale à des doses de 8 mg.kg⁻¹.j⁻¹ pendant 4 semaines. Il s'agit d'une augmentation des concentrations des catécholamines cérébrales et de l'hormone Adreno-Cortico-Tropic (ACDH) accompagnée d'une libération de la corticostérone dans le sang. Cette stimulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire pourrait avoir une action sur le système immunitaire.

Le rapport de la commission européenne mentionne que les études par voie orale n'incluent pas de données sur des anomalies morphologiques ou des dysfonctionnements du comportement. Par conséquent, ni NOAEL, ni LOAEL n'ont été identifiés pour la voie orale.

Aucun effet neurologique n'est rapporté chez l'animal lors de l'exposition cutanée (CE, 2003).

2.3.2.3 Effets sur le système immunitaire

Le benzène est un dépresseur de l'immunité cellulaire et humorale chez la souris dès l'exposition à 10 ppm (32 mg.m⁻³) 6 h par jour pendant 6 jours. Les mêmes constatations sont faites pour des administrations de 40 mg.kg⁻¹.j⁻¹ pendant 4 semaines. Dans certains cas, des stimulations de la réponse immunitaire sont rapportées pour des expositions de souris par voie orale à de faibles doses (8 mg.kg⁻¹.j⁻¹) pendant 4 semaines.

Une exposition courte à de fortes doses de benzène par voie orale (800 mg.kg pc⁻¹ pendant 3 jours) induit une activation non spécifique de la réponse immunitaire de la moelle osseuse.

Les données chez les rats n'ont pas révélé d'effet spécifique sur la réponse immunitaire humorale.

Les résultats indiquent qu'une exposition au benzène, quelle que soit la voie d'exposition (respiratoire ou orale) affecte défavorablement la réponse immunitaire. Les principaux effets observés chez les souris sont la diminution de la réponse aux mitogènes, l'augmentation de l'activité cytotique et la diminution de la production d'anticorps.

2.3.2.4 Effets sur la reproduction

L'exposition au benzène par voie orale du rat et de la souris ne révèle pas d'effet toxique sur la fonction de reproduction du mâle et de la femelle après 17 semaines pour des expositions au benzène pouvant atteindre jusqu'à $600 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$. Cependant, après 2 ans d'exposition pour des doses comprises entre 25 et $100 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$, des lésions ovariennes allant de l'atrophie à la néoplasie sont retrouvées chez la souris femelle (ATSDR 2007).

Plusieurs auteurs ont cherché à mettre en évidence un effet du benzène sur la fonction de reproduction mâle et femelle chez l'animal exposé par inhalation.

Ward *et al.* ont exposé des souris mâles et femelles et des rats Sprague-Dawley à des concentrations de 1, 10, 30 ou 300 ppm, 6 h par jour, 5 jours par semaine pendant 13 semaines. Aucun effet toxique sur la reproduction n'a été observé chez les rats. Cependant, les souris exposées à 300 ppm (958 mg.m^{-3}) pendant 90 jours présentaient des lésions testiculaires (7/10 souris), une diminution du nombre de spermatozoïdes (6/10 souris) et une augmentation des formes anormales de spermatozoïdes (9/10). Quatre souris femelles sur 10 présentaient des kystes ovariens après 90 jours d'exposition à 300 ppm. Les auteurs ont identifié une LOAEC de 300 ppm (958 mg.m^{-3}) et une NOAEC de 30 ppm (96 mg.m^{-3}).

L'étude chez des rats Sprague-Dawley femelles exposées à des concentrations de benzène de 0, 1, 30, et 300 ppm (0 - 3,2 - 96 et 958 mg.m^{-3}) 6h par jour, 5 jour par semaine pendant 10 semaines avant et pendant la période d'accouplement, du 0 au 20^{ème} jour de gestation, du 5^{ème} au 21 jour de lactation a identifié une LOAEC de 300 ppm (958 mg.m^{-3}) et une NOAEC de 30 ppm (96 mg.m^{-3}), basée sur une réduction statistiquement significative du poids du corps et du foie ($p < 0,05$) ainsi que sur de précédentes études montrant des effets similaires pour ces mêmes niveaux de concentration de benzène.

2.3.2.5 Effets sur le développement

La principale voie investiguée est la voie respiratoire. Les résultats de ces études sont relativement compatibles entre les espèces étudiées. Le benzène n'a pas d'action tératogène et embryotoxique spécifique (CE, 2003). Cependant, le benzène peut amener à des retards de la croissance du fœtus, une diminution du poids du fœtus, une diminution de la taille du corps du fœtus et des anomalies squelettiques. Il a été suggéré que le fœtoxicité est liée à une toxicité maternelle parce que l'occurrence d'une diminution de poids du fœtus et l'augmentation des anomalies squelettiques dans diverses études sont souvent associées par exemple à une diminution du gain du poids maternel (ATSDR, 2007).

Seules les études effectuées chez les rats ont étudié l'association entre la toxicité maternelle et le retard de croissance du fœtus. Des expositions au benzène pendant 10 jours consécutifs à des niveaux supérieurs ou égaux à 10 ppm lors de la gestation ont causé une toxicité maternelle. Aucun retard de croissance du fœtus n'a été observé pour des niveaux

d'exposition inférieurs ou égaux à 40 ppm. Parmi les études effectuées chez les rats, la plus faible NOAEL associée à des effets sur le développement est de 10 ppm (32 mg.m⁻³) : elle est dérivée de l'étude de Kuna *et al.* et réfère au retard de croissance observé chez les fœtus. Le rapport de la CE mentionne qu'il devrait être pris en compte pour l'évaluation des risques sanitaires (CE, 2003)

2.3.2.6 Irritation de la peau et des yeux

Le benzène s'est avéré être un irritant de la peau au cours de tests conduits selon la ligne directrice n° 404 de l'OCDE. En effet, la peau de 6 lapins exposés pendant 4 heures à du benzène non dilué a présenté un érythème de grade 3 dans les 6 jours (Jacob, 1992). Erythème, œdème, exfoliation, nécrose modérée sont observés après 20 applications de benzène non dilué chez des lapins blancs. Smyth *et al.* ont noté comme réaction la plus grave une irritation de la peau de grade 3 (sur une échelle de 10) chez des lapins albinos.

Le benzène peut également endommager sérieusement les yeux. Deux gouttes de benzène causent une irritation conjonctivale modérée et des dommages très légers et passagers de la cornée. Une nécrose de la cornée de niveau 3 (sur une échelle de 10) a été observée par Smyth *et al.*

2.3.2.7 Sensibilisation

Il n'existe pas de données chez l'animal.

2.3.3 **Cancérogénicité**

Le CIRC, Santé Canada, le RIVM, l'US EPA et la CE ont évalué la cancérogénicité du benzène. Santé Canada et le RIVM ont classé le benzène dans le groupe I « cancérogène pour l'Homme », l'US EPA dans le groupe A « cancérogène connu chez l'Homme, le CIRC dans le groupe 1 : « cancérogène avéré pour l'Homme » (preuves suffisantes chez l'animal et chez l'Homme), la Commission Européenne dans le groupe cancérogène de catégorie 1 (R45)¹⁷ et mutagène de catégorie 2 (R46)¹⁸.

¹⁷ Substance que l'on sait être cancérogène pour l'Homme. On dispose de suffisamment d'éléments, dans les données épidémiologiques, pour établir l'existence d'une relation de cause à effet entre l'exposition de l'Homme à de telles substances et l'apparition de cancers.

¹⁸ Substance devant être assimilée à des substances mutagènes chez l'Homme. On dispose de suffisamment d'éléments pour justifier une forte présomption que l'exposition de l'Homme à de telles substances peut entraîner des défauts génétiques héréditaires.

2.3.3.1 Résumé du CIRC (1987, 2012)

Dans la monographie révisée du benzène parue en 2012, le CIRC concluait que le niveau de preuve du lien causal entre l'exposition au benzène et les leucémies aiguës myéloïdes et leucémies aiguës non lymphoïdes était suffisant.

De nombreuses études de cas et de cohorte suggèrent une relation entre l'exposition au benzène et l'apparition de leucémies. Plusieurs études cas témoins montrent des excès de risques augmentés, mais les co-expositions à d'autres substances cancérigènes et l'estimation trop pauvre des expositions rendent leur interprétation difficile (Arp, 1983 ; CIRC, 1987, 2012).

Trois études de cohorte différentes ont montré une augmentation de l'incidence des leucémies aiguës non lymphoblastiques chez les travailleurs exposés au benzène (Decoufle, 1983). L'actualisation des données de l'une d'entre elles (CIRC, 1987) confirme ces premiers résultats et donne un SMR de 194 (IC_{95%} 52-488) basé sur 4 cas ; la différence était significative quand seules les leucémies myéloblastiques étaient considérées (4 observés, 0,9 attendus, $p = 0,011$) (Bond, 1986). Une nouvelle étude de cohorte trouve un excès de risque de leucémies myéloblastiques aiguës (SMR = 394 ; 172-788) chez les travailleurs d'une raffinerie basé sur 8 cas qui n'étaient pas les plus exposés (McCraw, 1985). Une autre étude dans une raffinerie ne montre pas de décès par leucémie contre 0,42 cas attendu, mais l'exposition moyenne était faible (0,45 mg.m⁻³), seulement 16% des 1 394 mesures individuelles, réalisés entre 1973 et 1982, étaient supérieurs à 3,19 mg.m⁻³. Dans les unités particulièrement exposées au benzène, l'exposition médiane était de 1,7 mg.m⁻³ (Tsai, 1983).

Dans une cohorte rétrospective de travailleurs chinois (28 460) exposés au benzène dans 233 usines, 30 cas de leucémies (23 aiguës, 7 chroniques) ont été trouvés, et comparés aux 4 cas dans une cohorte « témoin » de 28 257 travailleurs non exposés (fabrication de machines, de textile et de vêtements). Le taux de mortalité par leucémie chez les exposés était de 14/100 000 personnes années et de 2/100 000 personnes années chez les non exposés (SMR = 574 ; $p < 0,01$). Les taux de mortalité étaient spécialement élevés chez les travailleurs de la synthèse organique, de la peinture et de la fabrication de caoutchouc. Chez les travailleurs ayant montré des signes d'empoisonnement aigu au benzène, le taux de mortalité par leucémie était de 701/100 000 personnes années. Les prélèvements d'air sur le lieu de travail pendant l'étude variaient de 10 à 1 000 mg.m⁻³, mais la plupart d'entre eux allaient de 50 à 500 mg.m⁻³ (Yin, 1987).

Le niveau de preuve est suffisant pour établir l'existence d'une relation de cause à effet entre l'exposition de l'Homme au benzène et l'apparition de cancers

2.3.3.2 Résumé de santé Canada (1993)

Des associations ont été observées entre les cas de leucémie et l'exposition au benzène dans les populations exposées en milieu de travail dans de nombreuses études de cas et dans la majorité des études épidémiologiques faites à ce jour (1993). En outre, on trouve une relation dose-réponse nette dans la population la plus exposée au benzène (Rinsky, 1987). Toutefois, l'existence de seulement trois études (Bond 1986 ; Rinsky 1987 ; Wong, 1987b ; Wong, 1987a) est considérée comme suffisante par Santé Canada pour former la base de l'évaluation quantitative du potentiel cancérigène, bien que le nombre de décès par leucémie fut petit dans chaque étude. Les autres études sont moins pertinentes à cause de limites comme : i) une caractérisation de l'exposition insatisfaisante, ii) l'existence d'exposition simultanée à d'autres substances que le benzène, iii) un faible nombre de cas observés. Par exemple, bien que 25 décès dus à la leucémie aient été signalés dans l'étude de cohorte rétrospective des travailleurs de diverses industries chinoises par Yin *et al.* (Yin, 1987), le rapport publié ne comportait pas suffisamment d'information pour servir de base à la caractérisation de l'exposition individuelle.

Dans la cohorte des 956 travailleurs de l'industrie chimique étudiée par Bond *et al.* (1986) (Bond, 1986), il y avait un excès non significatif de décès dus à la leucémie par rapport au taux d'incidence national (4 observés contre 2,1 attendus). Toutefois, le nombre de cas de leucémie (rapport observé/prévu = 3/1,9 ; en excluant les individus exposés à l'arsenic, à l'amiante ou au chloroéthylène) était petit. Bien qu'on ait noté un excès significatif de décès dus au cancer de la peau dans la cohorte excluant les travailleurs exposés à l'arsenic, à l'amiante ou au chloroéthylène, tous ces cas étaient observés dans le groupe comportant la plus faible exposition cumulative estimée au benzène. Il n'y a pas de corrélation entre l'excès de risque de leucémie et la zone de travail, la durée de l'emploi ou l'exposition cumulative, ce qui peut être dû au faible nombre de cas observés.

Wong *et al.* (1987) (Wong, 1987a ; et b) trouve également un taux d'incidence élevé de leucémie par rapport au taux national dans une cohorte de 7 676 travailleurs employés dans sept usines chimiques (qui ne sont pas statistiquement significatifs). Là encore, le nombre total de cas était petit (rapport observé/prévu = 6/4,43 dans le groupe exposé en permanence). La mortalité due aux cancers de la lymphe ou de l'hématopoïèse augmentait significativement dans les groupes exposés de façon intermittente et continue combinés, par rapport aux groupes des travailleurs non exposés (19 contre 3) ainsi que le nombre de décès dus à la leucémie (7 contre 0). Il y avait une tendance à l'augmentation dans les ratios standardisés de mortalité (SMR) pour le cancer de la lymphopoïèse, la leucémie et le cancer de la lymphopoïèse autre que la maladie de Hodgkin, correspondant à l'exposition cumulative dans le groupe qui avait subi une exposition continue au benzène. Aucun des cas observés de leucémie de cette cohorte n'était du type le plus souvent observé chez les travailleurs exposés au benzène, c'est-à-dire la leucémie myéloblastiques aiguë.

Rinsky *et al.* (1987) (Rinsky, 1987) ont examiné la mortalité d'une cohorte de 1 165 travailleurs du Pliofilm exposés au benzène, qui était le seul solvant hématotoxique auquel les employés étaient exposés. Une augmentation significative des décès dus à tous les types de néoplasmes lymphatiques et hématopoïétiques ont été observés (rapport observé/prévu : 15/6,6), ainsi que des décès dus à la leucémie (rapport observé/prévu : 9/2,66 ; 7 des cas observés étaient des leucémies myéloblastiques aiguës, un était un cas de leucémie myéloblastique chronique et un autre était un cas de leucémie myéloblastique non précisée). On notait une forte tendance positive de la mortalité due à la leucémie en fonction de l'exposition cumulative croissante (SMR = 109, 322, 1 186 et 6 637, avec exposition croissante). Selon une analyse appariée de cas témoins, la durée moyenne de l'exposition était plus longue pour les cas que pour les témoins (8,7 contre 2,6 années). Dans la cohorte, quatre décès dus à des myélomes multiples ont été notés (par rapport à un cas prévu). Trois de ces décès sont survenus dans le groupe le moins exposé et tous avaient une période de latence minimale de 20 ans. Bien que les nombres de cas observés et prévus de leucémie dans cette étude soient plutôt faibles, des cas de mortalité supplémentaires dus à cette cause ont été observés selon le suivi le plus récent (jusqu'à décembre 1987) dans une portion de cette cohorte (Rinsky, 1991), mais les résultats ne sont pas publiés.

2.3.3.3 Résumé de l'US EPA (2003)

L'US EPA a classé le benzène comme cancérigène connu chez l'Homme selon les critères de leurs Guides Méthodologiques de 1996. Il est cancérigène pour toutes les voies d'exposition sur la base des preuves convaincantes chez l'Homme et chez l'animal.

Les études épidémiologiques et les études de cas humain fournissent des preuves évidentes d'une association causale entre l'exposition au benzène et les leucémies aiguës non lymphoblastiques (LANL). Elles suggèrent une association possible pour les leucémies chroniques non lymphoblastiques (LCNL) et les leucémies chroniques lymphoblastiques (LCL). On note également une augmentation des risques de certains néoplasmes ou désordres sanguins comme : la préleucémie, l'anémie néoplasique, le lymphome de Hodgkin's et le syndrome myéloдисplasique. Ces données humaines sont confirmées par les expérimentations chez l'animal qui ajoutent au tableau d'ensemble d'autres sites de cancers : des cavités nasale et orale, du foie, du pré estomac, des glandes prépucciales, du poumon, des ovaires et des glandes mammaires. Il est probable que ces derniers effets soient dus aux interactions des métabolites du benzène avec l'ADN. Les études récentes soutiennent le point de vue que les mécanismes d'effets cancérigènes du benzène sont multiples (US EPA, 2003, CIRC 2012).

2.3.3.4 Résumé de Santé Canada (2007)

Il existe de nombreuses études qui font état de taux accrus de cancer par suite d'une exposition professionnelle au benzène (Bond *et al.*, 1986 ; Wong, 1987 ; Hayes *et al.*,

1996 ; Schnatter *et al.*, 1996 ; Rushton et Romaniuk, 1997) (Bond 1986 ; Wong 1987a ; Wong 1987b ; Hayes, 1996 ; Schnatter, 1996a ; Schnatter, 1996b ; Schnatter, 1996c ; Rushton, 1997b). Des revues de la littérature concernant la cancérogénicité associée à une exposition professionnelle au benzène ont été publiées par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC, 1987 et 2012), le Programme international sur la sécurité chimique de l'OMS (OMS, 1993) et l'ATSDR (ATSDR, 2007).

Grâce à la cohorte Pliofilm de l'Ohio (hydrochlorure de caoutchouc), on dispose de données publiées valables pour l'évaluation du risque de cancer chez l'Homme découlant d'une exposition au benzène, étant donné que cette cohorte est celle qui a été le moins exposée en milieu de travail à d'autres substances potentiellement cancérogènes qui pourraient influencer sur l'analyse du risque associé au benzène, et que les travailleurs de Pliofilm étaient exposés à un plus grand éventail de concentrations estimées de benzène que les travailleurs ayant participé à d'autres études de cohortes. Rinsky *et al.* (1981, 1987) (Rinsky *et al.*, 1981 et ; 1987) ont été les premiers à procéder à des études poussées de la cohorte Pliofilm, qui comprenait 748 travailleurs masculins dans trois installations de l'Ohio ayant été exposés au benzène de 1940 à 1949 dans le cadre de leur travail et ayant été suivis jusqu'à la fin de 1981. On a estimé que les concentrations de benzène auxquelles les travailleurs ont été exposés se situaient entre 100 ppm en 1941 et 10 ppm (concentration moyenne pondérée pour une période de 8 heures) en 1949. Une hausse statistiquement significative de la mortalité attribuable à des affections malignes des tissus lymphatiques et hématopoïétiques ((SMR) = 330 ; $p < 0,01$) a été signalée, dont sept décès par leucémie (SMR = 560 ; $p < 0,001$). Chez les travailleurs exposés pendant plus de 5 ans, le SMR pour la leucémie s'établissait à 2 100. Rinsky *et al.* (1987) ont ultérieurement élargi l'étude de cohortes de l'Ohio de façon à inclure des personnes ayant travaillé au moins une journée par semaine entre 1940 et 1965, le nombre de personnes-années à risque étant calculé à partir de 1950. La cohorte élargie se composait de 1 165 hommes de race blanche suivis jusqu'en 1981. ; Le suivi a duré 6,5 années de plus que lors de l'étude antérieure et les chercheurs ont par ailleurs estimé l'exposition individuelle. La durée de l'emploi et les estimations de l'exposition individuelle durant cette période ont servi à estimer le risque d'après les données groupées. Là encore, une forte tendance positive liée au degré d'exposition au benzène a été observée en ce qui concerne la mortalité par leucémie. ; Une hausse statistiquement significative a été notée pour tous les cancers des tissus lymphatiques et hématopoïétiques (15 décès) comparativement aux taux attendus dans la population générale (SMR = 227, (IC)_{95%} = 127-376). Pour ce qui est du nombre total de décès par leucémie (9 décès), le SMR s'élevait à 337 (IC_{95%} = 159-641). Un risque accru de myélome multiple (4 décès) a aussi été enregistré (SMR = 398, IC_{95%} = 110-1 047).

Des analyses effectuées par d'autres auteurs (Paustenbach, 1992 ; Paxton, 1994a ; Paxton, 1994b ; Crump, 1984 ; Crump, 1994) ayant prolongé les périodes de suivi et modifié les estimations de l'exposition se sont traduites par des résultats légèrement différents ; cependant, les différences étaient comprises dans le même intervalle d'incertitude.

Au cours d'une vaste étude rétrospective de cohortes menée en Chine auprès de travailleurs exposés au benzène, Yin *et al.* (1987) ont examiné 28 460 travailleurs exposés dans 233 usines ainsi que 28 257 travailleurs témoins d'autres industries (Yin *et al.*, 1987). Trente cas de leucémie ont été répertoriés (23 de leucémie aiguë, 7 de leucémie chronique) parmi les travailleurs exposés, comparativement à quatre cas chez les témoins non exposés (SMR = 574, $p < 0,01$). On a estimé que les concentrations de benzène au moment de l'étude se situaient entre 3 et 313 ppm et que la majorité des travailleurs étaient exposés à des doses de 16 à 157 ppm. En 1994, Yin *et al.* (Yin *et al.*, 1994) ont élargi la cohorte de sorte qu'elle comportait 74 828 travailleurs exposés au benzène (depuis 1949) et 35 805 témoins travaillant dans 712 usines situées dans 12 villes chinoises. Dosemeci *et al.* (1994) ont décrit l'évaluation de l'exposition : on y trouvait l'appellation d'emploi ainsi que l'affectation des unités de travail individuelles, qui illustraient l'exposition des travailleurs individuels (Dosemeci *et al.*, 1994). Yin *et al.* (1996) ont signalé le nombre total de cas de cancer dans la cohorte élargie des travailleurs exposés et celle des travailleurs témoins (Yin *et al.*, 1996 ; Yin *et al.*, 1996). Ils ont observé dans le groupe exposé, par rapport au groupe témoin, une incidence accrue de leucémie (RR = 2,6, IC_{95%} = 1,3-50), de lymphome malin (RR = 3,5, IC_{95%} = 1,2-14,9) et de décès par cancer du poumon (RR = 1,4, IC_{95%} = 1,0-2,0). Parmi les cas de leucémie, l'incidence de la leucémie aiguë myéloïde était plus élevée dans le groupe exposé au benzène (RR = 3,1, IC_{95%} = 1,2-10,7). Une hausse significative des cas d'anémie aplasique et de syndromes myéloдисplasiques a aussi été enregistrée.

2.3.4 Génotoxicité

Il existe de nombreuses monographies publiées entre 1982 et 2012 (CIRC, 1982, 1987, 2012 ; OMS, 1993 ; Santé Canada, 1993 ; CE, 1998 ; OMS, 2000 ; OEHHA, 2002 ; US EPA, 2003 ; OEHHA, 2005 ; Santé Canada, 2007 ; ATSDR, 2007) sur les effets toxiques du benzène incluant un chapitre dédié à l'examen des connaissances sur son potentiel génotoxique :

- 1982, CIRC vol 29 ;
- 1987, CIRC supplément n°7 ;
- 1993, OMS EHC n°155 ;
- 1993, Health Canada ;
- 1998, Commission Européenne ;
- 2000 OMS AQG 2^{ème} ed. ;
- 2002, OEHHA ;
- 2003 US EPA ;
- 2005, OEHHA ;
- 2007 Health Canada ;
- 2007 ATSDR.
- 2012 CIRC vol 100F

Ce chapitre est basé sur la synthèse de l'ATSDR, de l'US EPA (et OEHHA) et de Santé Canada et de l'CIRC parce qu'ils sont les plus récents. Si la toxicité et la génotoxicité du benzène sont étudiées depuis fort longtemps tous les mécanismes d'actions ne sont pas encore élucidés et font l'objet de controverses scientifiques.

On dénombre une centaine d'études originales sur la génotoxicité du benzène. La plupart de celles publiées avant les années 1990 sont basées sur des tests classiques, ensuite elles sont plus spécifiquement dédiées à la recherche des explications mécanistiques ou la vérification d'hypothèses issues d'études épidémiologiques chez les travailleurs exposés au benzène.

2.3.4.1 Synthèse des données disponibles

Selon la monographie de l'ATSDR publié en 2007, les effets de génotoxique du benzène ont été extensivement étudiés. Cette synthèse comporte donc les dernières études publiées sur le potentiel génotoxique du benzène. Les conclusions de l'ATSDR sont les mêmes que celles, plus anciennes, d'autres instances comme l'US EPA, le CIRC ou l'OEHHA. Le documents de l'ATSDR incorpore plus de preuves à l'appui de la génotoxicité du benzène et élucide certains aspects mécanistiques jusqu'alors mal connus.

2.3.4.1.1 Etudes in vitro

- **Bactérie, champignon et plasmide**

L'ATSDR recense 3 études positives (histidine reversion) de mutations géniques chez *Salmonella typhimurium* avec activation métabolique et négatives sans activation métabolique, une étude sur *Aspergillus nidulan* négative sans activation métabolique et une étude chez la souris est négative. Deux tests d'Ames négatifs avec ou sans activation. Une étude est positive pour la dégradation de l'ADN sans activation métabolique sur le plasmide Φ X-174RF).

Tableau XX : Etudes de génotoxicité *in vitro* chez les bactéries, champignons et plasmides recensées par l'ATSDR en 2007

Espèce	effet	avec activation	sans activation	Date des études
<i>S. typhimurium</i>	Mutation génique	3 positives 2 négatives	2 négatives	1979-1982- 1984-1989
<i>Bacillus subtilis</i>	Mutation génique	1 négative	1 négative	1977
<i>Escherichia colis</i>	Synthèse de l'ADN	n.e.	1 incertaine 1 négative	1988-1992
<i>Aspergillus nidulans</i>	Mutation génique	n.e.	1 négative	1986
Plasmide ΦX-174RF	Dégradation de l'ADN	n.e.	1 positive	1995

Dans ce tableau les résultats positifs et les dates d'études postérieures à 1993 (date de la première évaluation du CIRC) sont en caractères gras.

- **Lignées cellulaires animales et humaines**

Une étude chez la souris est négative pour les **mutations géniques** (test TK) avec ou sans activation sur L5178 non.

Pour les **aberrations chromosomiques**, une étude négative sur cellules ovariennes de hamster (avec ou sans activation), trois études positives sur des lignées lymphoblastiques humaines (sans activation) et une seule négative (sans activation) ont été recensées.

L'augmentation des **micronoyaux** est non significative (avec ou sans activation) sur des cellules de hamster (cellules ovariennes) et sur des cellules humaines (cellules sanguines).

L'augmentation des **échanges de chromatides sœurs** est significative dans une étude sur des cellules humaines (lymphocytes) sans activation, mais non significative dans une étude sur des cellules humaines (lymphocytes) avec activation et dans une étude chez le hamster (cellules ovariennes) avec ou sans activation.

Des adduits à l'ADN ont retrouvés dans 2 études sur des cellules hépatiques de rat et dans 4 études sur des cellules humaines (moelle osseuse et cellules leucémiques).

Des **cassures de l'ADN** n'ont pas été détectées dans une étude sur des cellules de rat sans activation (culture d'hépatocytes), sur des cellules de hamster avec et sans activation et sur des cellules de souris sans activation, mais deux études sont positives sur des cellules de hamster avec et sans activation (cellules ovariennes).

Pour les **dommages oxydatifs à l'ADN**, une étude est positive sur des cellules humaines (cellules leucémiques) et une étude est positive pour l'**hyperphosphorylation** sur des cellules de rat sans activation (cellules épithéliales).

Les résultats des études sur la **synthèse non programmée de l'ADN** sont variables : sur des cellules de rat (une positive deux négatives) et une étude est négative sur des cellules humaines (HeLa S3) avec et sans activation.

L'inhibition de la synthèse de l'ADN est positive dans 4 études sur des cellules de souris avec et sans activation (culture cellulaire de moelle osseuse, ou de lymphocytes) mais négative sur des cellules humaines avec et sans activation).

Tableau XXI : Etudes *in vitro* sur des lignées cellulaires animales et humaines recensées par l'ATSDR en 2007

Espèces (lignée cellulaire)	Effets	avec activation	sans activation	Date des études
Souris (L5178Y, test TK)	Mutation génique	1 négative	1 négative	1984
Hamster (ovaire)	Aberrations chromos.	1 négative	1 négative	1989
Homme (lymphocyte)	Aberrations chromos.	n.e.	2 positives 1 négative	1976- 1994 1978
Homme (lymphoblaste)	Recomb. inter chromos.	n.e.	1 positive	1995
Hamster (ovaire)	micro noyaux	1 négative	1 négative	1985
Homme (sang complet...)	micro noyaux	1 négative	1 négative	1999
Hamster (ovaire)	Echanges chromatides sœurs	2 négative	2 négative	1985-1989
Homme (lymphocyte)	Echanges chromatides sœurs	1 positive n.e.	n.e. 1 négative	1983 1978
Lapin (moelle osseuse)	Adduits à l'ADN	n.e.	1 positive	1984
Rat (foie)	Adduits à l'ADN	n.e.	1 positive	1984
Veaux (thymus)	Adduits à l'ADN	n.e.	1 positive	1995
Homme (moelle osseuse)	Adduits à l'ADN	n.e.	2 positives	1992-1993
Homme (cellule leucémique)	Adduits à l'ADN	n.e.	2 positives	1992-1993
Rat (hépatocytes)	Cassure d'ADN	n.e.	1 négative	1985
Hamster (ovaire)	Cassure d'ADN	2 positives	2 positives	1985-1985
Hamster (cellule V79)	Cassure d'ADN	1 négative	1 négative	1976
Souris (cellule L5178Y)	Cassure d'ADN	n.e.	1 négative	1986
Homme (cellule leucémique)	Domage oxydatif à l'ADN	n.e.	1 positive	1993
Homme (lymphocytes)	Capacité réparation ADN	n.e.	1 négative	1996
Rat (épithéliale du foie)	Hyper phosphorylation ADN	n.e.	1 positive	1994
Rat (hépatocytes)	Synthèse non prog. ADN	1 n.e. 1 négative	1 positive 2 négatives	1985 1985-1985
Homme (HeLa S3)	Synthèse non prog. ADN	1 négative	1 négative	1985
Souris (moelle osseuse)	Inhibition synthèse ADN	1 positive 2 n.e.	3 positives	1988-1988- 1985
Homme (HeLa)	Inhibition synthèse ADN	1 négative	1 négative	1982
Veaux (thymus)	Inhibition synthèse ADN	n.e.	1 positive	1988
Rat (foie)	Inhibition synthèse ADN	n.e.	1 positive	1982
Chat (moelle osseuse)	Inhibition synthèse ADN	n.e.	1 positive	1982
Lapin (moelle osseuse)	Inhibition synthèse ADN	n.e.	1 positive	1982

Dans ce tableau les résultats positifs et les dates d'études postérieures à 1993 (date de la dernière évaluation du CIRC) sont en caractères gras

2.3.4.1.2 Etudes in vivo

Les études *in vivo* montrent des résultats beaucoup plus homogènes. On dénombre 32 études positives pour les **aberrations chromosomiques** chez la souris (9 études), le rat (5), le hamster (1) le lapin (2) et les travailleurs exposés (15). Elles sont observées dans les cellules de moelle osseuse, les lymphocytes et les cellules myéloïdes. Seules 3 études sont négatives (1 chez le rat 2 chez l'Homme).

34 études sont positives pour le test des **micronoyaux** sur les mêmes types de cellule (moelle osseuse, lymphocytes) chez la souris (31), le rat (1), le hamster (1) et l'Homme (4). Seule, une étude chez l'Homme est négative.

Le test des **échanges de chromatides sœurs** est positif dans 4 études sont positives chez les souris (moelle osseuse, lymphocytes), dans une étude chez le rat (lymphocytes) et une étude chez l'Homme exposé professionnellement (lymphocytes). Mais 4 études sont négatives chez l'Homme (dont deux assez récentes, 1997 et 2000).

L'ATSDR retrouve 3 études positives pour les **mutations géniques** chez la souris (lymphocytes, tissus pulmonaires, pre mélanocyte) et une étude chez l'Homme exposé au travail (moelle osseuse). Une étude est négative chez l'Homme.

Enfin, des adduits à l'**ADN** sont retrouvés dans toutes les études : dans 22 études dont 11 chez la souris (moelle osseuse, globule blanc et foie) et 11 chez le rat (moelle osseuse).

Les **cassures simples brins de l'ADN** sont retrouvées dans une étude chez la souris (sang périphérique, lymphocytes), une chez le rat (moelle osseuse, lymphocytes, foie) et trois chez l'Homme professionnellement exposé dont une datée de 2002 (lymphocytes).

Une étude humaine est négative pour la perte **d'efficacité réparatrice de l'ADN**, mais cette étude n'avait pas la puissance statistique pour montrer une quelconque différence eut égard à la variation naturelle inter humaine du marqueur d'efficacité réparatrice utilisé.

Pour les altérations **oxydatives de l'ADN**, une étude est positive chez la souris et chez l'Homme..

Enfin, quatre études sont positives concernant **l'inhibition de la synthèse de l'ADN** dans les cellules de moelle osseuse ou les mitochondries hépatiques, 4 études chez la souris, une chez le lapin, l'autre chez le rat. Mais une étude sur des lignées cellulaires humaines (HeLa) est négative avec ou sans activation.

Enfin, **l'inhibition de la synthèse de l'ADN** est positive dans une étude chez la souris et une étude chez le lapin, et **l'inhibition de la synthèse de l'ARN** est positive dans une étude chez la souris et une chez le rat (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**).

Tableau XXII : Etude *in vivo* chez l'invertébré, l'animal et l'Homme recensées par l'ATSDR en

Tableau XXII : Etude *in vivo* chez l'invertébré, l'animal et l'Homme recensées par l'ATSDR en 2007

Espèces (cible)	effets	Conclusions	Date des études
<i>Drosophila melanogaster</i>	Mutation létale liée au sexe	1 négative	1983
	Recombinaison (spermatogonie)	1 positive	1983
	Recombinaison (spermatocyte)	1 négative	1983
	Translocation héritable	1 négative	1983
Souris (moelle osseuse)	Aberrations chromosomiques	6 positives	2001-1995-81-80-80-82
Souris (lymphocyte rate)	Aberrations chromosomiques	2 positives	1991-1987
Souris (cellule lymphoblastique et myéloblastique)	Aberrations chromosomiques	2 positives	2001
Rat (Moelle osseuse)	Aberrations chromosomiques	5 positives 1 négative	1970-81-84-90
Hamster (moelle osseuse)	Aberrations chromosomiques	1 positive	1981
Lapin (moelle osseuse)	Aberrations chromosomiques	2 positives	1972-73
Homme (lymphocytes)	Aberrations chromosomiques	13 positives 2 négatives	1965 à 2000 1987-1997
Souris (moelle osseuse)	Micro noyaux	20 positives	1980 à 2001
Souris (sang périphérique)	Micro noyaux	5 positives	1985-85-88-88-96
Souris (fibroblaste pulmonaire)	Micro noyaux	1 positive	1998
Souris (foie du fœtus)	Micro noyaux	1 positive	1988
Rat (lymphocyte)	Micro noyaux	1 positive	1986
Hamster (moelle osseuse)	Micro noyaux	1 positive	1981
Homme (lymphocyte)	Micro noyaux	2 positives 2 négatives	1991-96 1996-97
Souris (moelle osseuse)	Echange de chromatides sœurs	3 positives	1980-82-85
Souris (lymphocyte)	Echange de chromatides sœurs	1 positive	1986
Souris (foie du fœtus)	Echange de chromatides sœurs	1 positive	1985
Rat (lymphocyte)	Echange de chromatides sœurs	1 positive	1986
Homme (lymphocyte)	Echange de chromatides sœurs	1 positive 4 négatives	1992 1988 à 2000
Souris (lymphocyte rate)	Mutations géniques	1 positive	1992
Souris (tissu pulmonaire)	Mutations géniques	1 positive	1998
Embryon souris (premelanocyte)	Mutations (délétion)	1 positive	1997
Homme (moelle osseuse)	Mutations (duplication de gène)	1 positive	1995
Homme (moelle osseuse)	Mutations (inactivation de gène)	1 négative	1995
Souris (moelle osseuse)	Adduits à l'ADN	5 positives	1985 à 2003
Souris (globules blancs)	Adduits à l'ADN	1 positive	1996
Souris (foie)	Adduits à l'ADN	4 positives	1985 à 2003
Rat (moelle osseuse)	Adduits à l'ADN	5 positives	1985 à 2003
Rat (foie)	Adduits à l'ADN	6 positives	1977 à 2003
Souris (sang périphérique)	Cassures de l'ADN (test ?)	1 positive	1996
Rat (lymphocyte, moelle osseuse, foie, rate)	Cassures de l'ADN	1 positive	2005
Homme (lymphocytes)	Cassures de l'ADN	4 positives	1996-97-00

Homme (lymphocytes)	Pouvoir réparation ADN	1 négative	1996
Rat (moelle osseuse)	Domage oxydatif ADN	1 positive	1993
Homme (lymphocytes)	Domage oxydatif ADN	1 positive	1996
Souris (moelle osseuse)	Inhibition synthèse ADN	1 positive	1988
Lapin (moelle osseuse)	Inhibition synthèse ADN	1 positive	1972
Souris (moelle osseuse)	Inhibition synthèse ARN	1 positive	1972
Rat (mitochondrie hépatique)	Inhibition synthèse ARN	1 positive	1982

Dans ce tableau les résultats positifs et les dates d'études postérieures à 1993 (date de la première évaluation du CIRC) sont en caractères gras.

2.3.4.1.3 Génotoxicité associée à l'exposition professionnelle

- **Aberrations chromosomiques**

Chez les travailleurs chroniquement exposés par inhalation ou par contact cutané au benzène, des aberrations chromosomiques sont généralement détectées dans le sang périphérique, les lymphocytes et la moelle osseuse (Andreoli *et al.*, 1997 ; Bogadi-Šare *et al.*, 1997 ; Ding *et al.*, 1983 ; Forni et Moreo, 1967, 1969 ; Forni *et al.*, 1971a ; Hartwich *et al.*, 1969 ; Hedli *et al.*, 1991 ; Karacic *et al.*, 1995 ; Kašuba *et al.*, 2000 ; Major *et al.*, 1992, 1994 ; Picciano, 1979 ; Popp *et al.*, 1992 ; Rothman *et al.*, 1995 ; Sardas *et al.*, 1994 ; Sasiadek *et al.*, 1989 ; Sellyei et Kelemen, 1971 ; Smith *et al.*, 1998 ; Sul *et al.*, 2002 ; Tompa *et al.*, 1994 ; Tough et Court Brown, 1965 ; Tough *et al.*, 1970 ; Türkel et Egeli, 1994 ; Van den Berghe *et al.*, 1979 ; Yardley-Jones *et al.*, 1990 ; Zhang *et al.*, 1998b, 1999). Elles surviennent dans une large gamme d'exposition incluant des niveaux faibles (Qu, 2002). Ces études en milieux professionnels sont souvent limitées par des données d'exposition lacunaires, des co-expositions possibles à d'autres produits chimiques et l'absence de groupes témoins appropriés.

Les aberrations chromosomiques observées chez les ouvriers incluent l'hypo- et l'hyperploïdie, des délétions,. Par exemple, l'analyse de lymphocytes périphériques d'ouvriers exposés aux vapeurs de benzène à une concentration moyenne de 30 ppm (97 mg.m⁻³) a révélé des augmentations significatives de monosomie des chromosomes 5, 7 et 8 (mais pas le 1) et de tri et/ou tétrasomie des chromosomes 1, 5, 7 et 8 (Zhang *et al.*, 1998b, 1999). Dans une autre série d'études, des aberrations étaient apparentes sur les chromosomes 1, 2, 4 et 9 et étaient deux fois plus nombreuses chez les ouvriers exposés que chez des témoins non exposés (Ding *et al.*, 1983, Sasiadek et Jagielski, 1990 ; Sasiadek *et al.*, 1989). Une augmentation significative des chromosomes di-centriques et des aberrations instables a été observée significativement plus souvent chez 36 travailleuses exposées au benzène dans une usine de chaussures comparé aux témoins (Kašuba *et al.*, 2000). Des augmentations significatives d'hyperploïdie des chromosomes 8 et 21 et des translocations entre des chromosomes 8 et 21 ont été observées chez des ouvriers exposés au benzène en moyenne à 31 ppm (Smith *et al.*, 1998).

- **Dommmages à l'ADN**

Les lésions oxydatives de l'ADN ont été évaluées chez 87 ouvriers exposés au benzène en mesurant la 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG) dans les lymphocytes du sang périphérique (Liu *et al.*, 1996). L'exposition au benzène a été classée comme basse (2,46 mg.m⁻³), moyenne (100 mg.m⁻³) ou haute (424 mg.m⁻³) (respectivement : 0,78 ; 32,2, ou 133 ppm). Les taux de 8-OHdG s dépendaient de la dose d'exposition. Le toluène, aussi détecté dans l'air du lieu de travail, ne modifie pas les taux de 8-OHdG. La fréquence de micronoyaux augmentait avec la concentration d'exposition et était significativement plus importante que chez les témoins. Les taux urinaires d'acide muconique, étaient bien corrélés avec les taux de 8-OHdG qui, à leur tour, étaient bien corrélés avec le nombre de micronoyaux lymphoblastiques. Les résultats de Liu *et al.* (1996) sont confirmés par ceux de l'étude par Nilsson *et al.* (1996) dans laquelle les niveaux urinaires accrus de concentration en 8-OHdG ont été retrouvés chez des ouvriers masculins (n = 30) employés de station service (distribution de carburant pétrolier). Les concentrations de benzène s'étendaient de 0,003 à 0,6 ppm (respectivement 9 µg.m⁻³ à 1 950 µg.m⁻³). Des augmentations significatives de pauses et de réplifications simples de l'ADN ont été aussi notées. Collectivement, les résultats de Liu *et al.* (1996) et Nilsson *et al.* (1996) fournissent la preuve que le benzène ou ses métabolites peuvent favoriser la formation de radicaux libres (espèces réactives de l'oxygène), qui pourraient être responsables de la formation de bases hydroxylées comme le 8-OHdG et des altérations de l'ADN (Liu *et al.*, 1996).

Rothman *et al.* (1995) a utilisé le test « glycophorin A » (GPA) (perte de gène par mutation) pour évaluer la nature des dégâts à l'ADN chez des ouvriers fortement exposés au benzène. Ce test mesure la fréquence des cellules qui ont perdu la forme M du gène GPA dans le sang périphérique de sujet hétérozygote. Les cellules « altérées » possèdent le phénotype NN (double copie de l'allèle N et aucune expression de M) ou le phénotype NØ (simple copie de l'allèle N et aucune expression de M). Les résultats ont montré une augmentation significative de la fréquence des cellules NN chez des ouvriers exposés de benzène (comparé aux témoins non exposés) en l'absence d'un effet significatif sur la fréquence de NØ. Ces résultats suggèrent donc que le benzène induit des mutations lors de la réplication des gènes mais sans inactivation.

2.3.4.1.4 Conclusion sur la génotoxicité

Dans les études *in vitro*, les tests d'adduits à l'ADN sont toujours positifs dans les 7 études disponibles. Elles concernent les lignées cellulaires de moelle osseuse, de foie, de thymus de 3 espèces animales (lapin, rat, veau) et humaine. Les tests d'inhibition de la synthèse de l'ADN sont également toujours positifs dans les 7 études disponibles concernant la souris, le rat, le lapin, le veau et le chat (aucune étude sur des lignées cellulaires humaines). Les résultats de tests d'aberrations chromosomiques sont variables *in vitro* (2 études positives, 1 négative) mais la qualité de l'étude négative n'est pas connue...

Dans les études *in vivo*, les aberrations chromosomiques, les cassures d'ADN et les altérations oxydatives de l'ADN sont systématiquement positifs dans toutes les études disponibles (respectivement 25 études, 21 études et 2 études) chez l'animal et chez l'Homme.

Annexe 3 : Analyse critique des équations mathématiques utilisées par les différents organismes dans la construction des VTR cancérigènes du benzène à partir d'études épidémiologiques

Objet : VTR Cancer du Benzène

Date de la saisine : 30/03/2009

N° de la saisine : 2009-SA-0346

Rapporteur : AC Roudot

Mandat : Réalisation d'une analyse critique des équations mathématiques utilisées par les différents organismes dans la construction des VTR cancérigènes du benzène à partir d'études épidémiologiques.

Méthode :

Ce travail a été effectué à partir de l'étude du rapport « Public health goal for benzene in drinking water » de l'OEHHA (2001), qui réalise un inventaire des méthodes publiées à cette date dans son chapitre « dose-response assessment » pages 74 et suivantes. Cette étude a été complétée par le rapport de Vincent Nedellec Conseil sur la construction d'une VTR Cancer pour le benzène, en 2008.

5 organismes proposent des VTR sans seuil pour le benzène : OMS, USEPA, OEHHA, RIVM et CE. Les valeurs proposées diffèrent sensiblement quoiqu'elles soient finalement basées sur un petit nombre d'études (notamment) épidémiologiques. La différence finale repose donc sur la méthode de calcul préconisée.

Diversité des approches :

De très nombreuses publications proposent des approches différentes quant à l'analyse des données épidémiologiques concernant le benzène. Plusieurs paramètres peuvent expliquer ces propositions :

on considère la durée d'apparition d'une leucémie, le nombre de cas de leucémie, le risque relatif (voire l'odds ratio). On considère un risque constant tout au long de la durée d'exposition, un temps de décalage entre l'exposition et la leucémie. On peut également considérer le phénomène comme linéaire, ce qui facilite le calcul de l'ERU par extrapolation linéaire vers les faibles doses, ou non linéaire ce qui nécessite de modifier le modèle avant extrapolation.

Les approches « simples » :

l'US EPA (1979) propose de calculer la probabilité de leucémie au cours de la vie. Le modèle est basique : $P = P_1(RR-1)/expo$ avec P_1 , probabilité de leucémie dans la population générale. Il s'agit d'une formule sans surprise supposant que le phénomène d'apparition de leucémie est linéaire en fonction de l'exposition. L'IARC (1982) propose une approche très voisine mais considère que le risque est plus important

pour les longues expositions. Il sépare alors les expositions de moins de 5 ans et les autres.

La méthode de Crump et Allen (1984) :

Les formules proposées sont là aussi assez classiques.

$E(O_i) = aE_i(1 + bd_i)$ risque relatif

$E(O_i) = E_i(a + bd_i)Y_i$ risque absolu

Elles prennent en compte un paramètre effet-dose (b) ainsi qu'un paramètre évaluant les différences entre la population étudiée (travailleurs) et la population générale (a).

Le modèle travaille par intervalles de dose.

Le problème de l'application de cette méthode vient de la dimension des études à traiter. En effet, le nombre de cas de leucémies induites devient vite très faible si on découpe les doses par intervalles (de temps, de dose ou de doses cumulées). Dès lors l'erreur sur le calcul devient vite très élevé. Crump montre ainsi qu'il est impossible de discriminer entre un modèle linéaire ou un modèle non linéaire (d transformé en d²).

En 1994-1996 Crump présente une version modifiée de son modèle. Il applique notamment un temps de latence avant que le benzène ne puisse avoir un effet, et il applique un poids différent aux expositions en fonction de leur valeur. La méthode devient assez sophistiquée et donne l'impression d'être mise au point pour se caler parfaitement sur les données expérimentales de la cohorte suivie (Pliofilm). Si cette approche adhoc peut paraître assez suspecte d'un strict point de vue mathématique, elle n'a cependant rien d'exceptionnel d'un point de vue analyse de données biologiques !

L'approche de Rinsky (1987)

Contrairement aux approches précédentes où les équations pouvaient être explicable biologiquement, il s'agit ici uniquement d'un modèle de régression logistique, permettant d'évaluer l'Odds Ratio. A noter que pour de faibles valeurs, l'odds ratio est équivalent au risque relatif.

$$OR = e^{(b_1X_1 + \dots + b_nX_n)}$$

les X_i correspondent aux doses et les b_i aux coefficients de dose.

L'inconvénient de cette méthode est son côté strictement statistique, son avantage est sa facilité d'adaptation aux données expérimentales (notamment en jouant sur n).

Paxton (1994) en propose une version légèrement modifiée prenant en compte le risque basal de la population et ses variations en fonction du temps.

Formule d'Austin (1988)

Austin considère un cumul d'exposition sur toute la vie, et calcule un excès de décès par leucémie sur la vie entière. Son approche est particulièrement simple mais adapté dès lors que les conditions d'exposition sont peu précises.

En conclusion,

on peut dire qu'il y a 3 familles : les approches linéaires (EPA, IARC), les approches exponentielles (Rinsky, Paxton), les approches « adhoc » (Crump). D'autres méthodes n'ont pas été reprises ici car se rattachant à l'une ou l'autre de ces méthodes principales. On peut noter que les résultats obtenus ne sont jamais très éloignés (sur la même cohorte) et proviennent essentiellement des difficultés à évaluer l'exposition réelle, et des données expérimentales effectivement retenues. On remarque en particulier, que la courbe effet-dose est supra-linéaire sur les faibles doses et que donc l'approximation linéaire aux faibles doses a tendance à sous-estimer le risque. Cette observation conduit certains auteurs à ne pas tenir compte des fortes expositions afin de limiter cette sous évaluation. Ceci se rapproche de la conclusion de VNC sur le calcul de la VTR qui préconise de choisir une valeur majorante (Intervalle de Confiance supérieur des calculs).

Enfin, comme toujours lorsque l'on calcule un risque relatif, il faut faire attention à la significativité mathématique du résultat. Lorsque le RR est très faible (VNC rapporte des RR de 1.003), il est important de savoir son origine et la précision des données initiales car on est susceptible de tirer des conclusions sur des arrondis ou des erreurs de mesure ou de calcul.

Dans le cas présent, c'est ce qui justifie que les agences aient généralement choisi de prendre la cohorte Pliofilm comme référence, bien que des cohortes plus importantes étaient disponibles. En effet c'est la seule pour laquelle une certaine garantie de non co-exposition existe. Il n'en reste pas moins que les évolutions de méthode rapportées ci-dessus sont dues à la diffusion progressive de nouveaux résultats issus de cette cohorte, ce qui montre la sensibilité extrême des méthodes aux données. Dans le choix d'une méthode il convient donc d'être très attentif à ce fait et à l'évaluer.

Bibliographie

- OEHHA. 2001. Public health goal for benzene in drinking water. 170 p.
Vincent Nedellec. 2008. Construction d'une valeur toxicologique de référence pour les effets cancérigènes du benzène par voie respiratoire. Vincent Nedellec Conseil. 106 p.

