

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 cancérigène 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 cancérigènes 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 cancérigènes. C'est dans ce contexte, qu'une méthode de construction de VTR cancérigènes 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 cancérigènes 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, cancérigène,...). 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 aiguë, leucémie aiguë 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 cancérogène 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 cancérogènes 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 Institute of Public Health and The Environment) (2001) Re-evaluation of human toxicological maximum permissible risk level. RIVM report 711701 025. (RIVM, 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 hypodiploidy 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.