

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



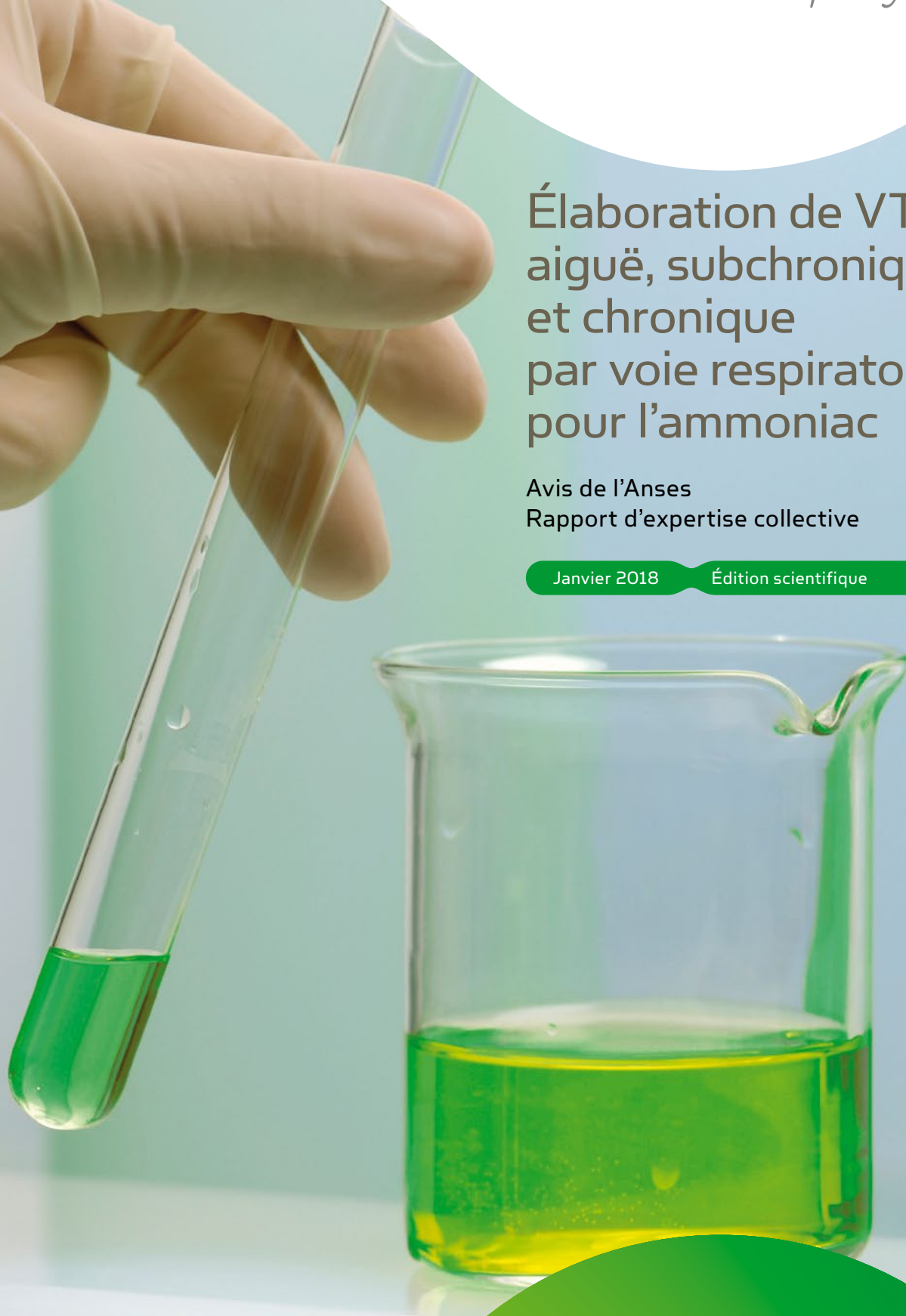
Connaître, évaluer, protéger

Élaboration de VTR aiguë, subchronique et chronique par voie respiratoire pour l'ammoniac

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Janvier 2018

Édition scientifique



Élaboration de VTR aiguë, subchronique et chronique par voie respiratoire pour l'ammoniac

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Janvier 2018

Édition scientifique

Le Directeur général

Maisons-Alfort, le 24 janvier 2018

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

relatif à l'élaboration de VTR aiguë, subchronique et chronique par voie respiratoire pour l'ammoniac (CAS n°7664-41-7)

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 à 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 publiés sur son site internet.

L'Anses a été saisie le 18 mars 2016 par la Direction générale de la santé pour la réalisation de l'expertise suivante : Sélection ou élaboration des valeurs toxicologiques de référence (VTR) pour le trichloroéthylène, le perchloroéthylène, l'ammoniac et quatre chloro-anilines

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Dans le cadre des évaluations de risques réalisées dans le traitement des dossiers relatifs aux installations classées pour la protection de l'environnement (ICPE) ou à la gestion des sites et sols pollués, les Agences régionales de santé (ARS) ou les bureaux d'étude communiquent à la DGS des questions relatives au choix des VTR de certaines substances. Ce choix s'effectue au regard de la note d'information N° DGS/EA1/DGPR/2014/307 du 31 octobre 2014 relative aux modalités de sélection des substances chimiques et de choix des VTR pour mener les évaluations des risques sanitaires dans le cadre des études d'impact et de la gestion des sites et sols pollués.

Dans cette note, l'Anses a été désignée comme agence d'expertise pour le choix et la construction des VTR. Dans la gestion de certains dossiers, le choix de la VTR peut s'avérer crucial pour l'évaluation des risques et faire basculer le risque d'acceptable à inacceptable. Cette situation s'est déjà présentée plusieurs fois dans le cadre de demandes d'autorisation d'exploiter d'ICPE rejetant de l'ammoniac.

Une VTR est un indice toxicologique qui permet de qualifier ou de quantifier un risque pour la santé humaine. Elle établit le lien entre une exposition à une substance toxique et le risque d'occurrence d'un effet sanitaire indésirable. Les VTR sont spécifiques d'une durée d'exposition (aiguë, subchronique ou chronique) et d'une voie d'exposition (orale ou respiratoire). La construction des VTR diffère en fonction des connaissances ou des hypothèses formulées sur les mécanismes d'action des substances. Actuellement, l'hypothèse par défaut est de considérer une

relation monotone entre l'exposition, ou la dose, et l'effet, ou la réponse. En l'état actuel des connaissances et par défaut, on considère généralement que, pour les effets non cancérogènes, la toxicité ne s'exprime qu'au-delà d'un seuil de dose (Anses, 2015a).

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

- choix de l'effet critique ;
- choix d'une étude de bonne qualité scientifique permettant généralement d'établir une relation dose – réponse ;
- choix ou construction d'une dose critique à partir des doses expérimentales et/ou des données épidémiologiques ;
- application de facteurs d'incertitude à la dose critique pour tenir compte des incertitudes pour les VTR à seuil,
- réaliser une extrapolation linéaire à l'origine afin de déterminer un excès de risque unitaire pour les VTR sans seuil.

L'élaboration des VTR suit une approche très structurée et exigeante qui implique des évaluations collectives par des groupes de spécialistes.

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 collective a été réalisée par le comité d'experts spécialisé (CES) « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » jusqu'en août 2017 puis par le CES « Valeurs sanitaires de référence ».

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 publiées sur le site internet <https://dpi.sante.gouv.fr>.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

■ Synthèse des données toxicologiques

L'ammoniac est un gaz provoquant des irritations sévères, voire des brûlures au niveau des muqueuses cutanée, oculaire et respiratoire en raison de ses propriétés alcalines. Plusieurs études court terme sur volontaires sont disponibles mais de qualité inégale et présentent des schémas d'exposition variés. Les données issues de ces études chez différentes catégories d'individus (travailleurs, volontaires sains ou asthmatiques) confirment le caractère irritant de l'ammoniac.

Suite à une exposition chronique, l'appareil respiratoire est la principale cible de la toxicité de l'ammoniac inhalé chez l'Homme, ainsi que chez l'animal. Les études chez l'Homme, disponibles, mettent en évidence des symptômes respiratoires (toux, rhinites, etc.), des effets irritatifs et des effets sur la fonction pulmonaire. Les études chez l'animal mettent également en évidence des effets immunologiques, des altérations histopathologiques au niveau du foie, des effets sur les reins et la rate ainsi que l'apparition d'une fibrose myocardique.

L'ammoniac n'entraîne pas d'effet sur la reproduction et le développement.

Une seule étude a étudié l'effet génotoxique de l'ammoniac chez des travailleurs (22 exposés versus 42 non exposés) (Yadav et Kaushik, 1997 cité dans ATSDR, 2004) et a montré une augmentation de la fréquence des aberrations chromosomiques et des échanges de chromatides sœurs et de l'indice mitotique. Cependant, compte tenu des limites (faible effectif, faibles niveaux de concentration d'ammoniac dans l'air ambiant, probable co-exposition, etc.), cette étude ne permet pas de tirer des conclusions quant à la mutagénicité de l'ammoniac. A partir des données anciennes, l'ATSDR¹ considère que l'ammoniac et l'ion ammonium peuvent avoir des propriétés clastogènes et mutagènes.

Le potentiel cancérigène de l'ammoniac par inhalation n'a pas été évalué chez l'Homme et l'animal.

■ VTR aiguë

○ Choix de l'effet critique

Les données disponibles, aussi bien chez l'Homme que chez l'animal, fournissent des preuves solides qu'une exposition aiguë à l'ammoniac par inhalation peut entraîner des lésions au niveau du site de contact, principalement les yeux et les voies respiratoires.

Chez l'Homme, dès une concentration dans l'air de 5 ppm, quelques symptômes subjectifs tels qu'un inconfort oculaire, des maux de tête, des vertiges et une sensation d'intoxication ont été ressentis (Sundblad *et al.*, 2004). Dès 25-50 ppm, un plus grand nombre de symptômes subjectifs ont été observés chez des volontaires exposés au repos ou avec une alternance de périodes de repos et d'exercice physique : sensations d'irritations oculaire, nasale, au niveau de la gorge et de la poitrine, envie de tousser, odeur pénétrante, sécheresse nasale, difficulté à respirer, mal de tête, fatigue, nausée, vertige et sensation d'intoxication (Silverman *et al.*, 1949 ; Verberk, 1977 ; Wallace, 1978 ; Sundblad *et al.*, 2004 ; Pacharra *et al.*, 2016).

Des symptômes respiratoires objectifs ont été mis en évidence à des doses plus élevées tels qu'une augmentation de la fréquence respiratoire, une augmentation de la résistance aérienne nasale et des modifications de paramètres ventilatoires et spirométriques (modification du volume minute, volume courant) dès 85 ppm (60,1 mg/m³) (Silverman *et al.*, 1949 ; Cole *et al.*, 1977 ; Mac Lean *et al.*, 1979 ; Douglas et Coe, 1987). D'autres études concluent à une absence d'effet respiratoire objectif à des concentrations comprises entre 16-20 et 50 ppm (Verberk, 1977 ; MacEwen *et al.*, 1970 ; Sigurdson *et al.*, 2004 ; Sundblad *et al.*, 2004).

Ainsi, le CES a décidé de retenir comme effet critique les effets respiratoires objectifs.

○ Analyse des VTR existantes

Trois VTR aiguës sont disponibles : une VTR élaborée par l'OEHHA² en 1999, une par l'ATSDR en 2004 et une par le TCEQ³ en 2015. Celles-ci n'ont pas été retenues par le CES pour les raisons suivantes :

- Le choix de l'effet critique : les VTR existantes sont établies sur des symptômes subjectifs, non retenus comme effet critique par le CES.
- Le choix de l'étude clé : les VTR de l'OEHHA et de l'ATSDR sont établies à partir des études chez des volontaires. Ces études présentent les limites suivantes : absence de groupe témoins (Verberk, 1977 ; Mac Ewen *et al.*, 1970) , absence d'analyse statistique des

¹ Agency for Toxic Substances and Disease Registry

² Office of Environmental Health Hazard Assessment

³ Texas Commission on Environmental Quality

résultats (Verberk, 1977), taux de réponse plus élevé chez les sujets « non experts » par rapport aux « experts » pouvant indiquer un biais lié à l'odeur (Verberk, 1977), publication ou travaux non disponibles (Mac Ewen *et al.* (1970) ; Industrial Bio-Test Laboratories, 1973).

- Le choix de la dose critique : l'OEHHA a compilé les résultats de plusieurs études différentes au moyen d'une modélisation benchmark dose. Cette approche soulève la question de la pertinence de l'agrégation de données expérimentales différentes (protocoles expérimentaux différents, accès aux données individuelles, *etc.*).
- Le choix des facteurs d'incertitude retenus par le TCEQ ne suit pas la méthode d'élaboration des VTR de l'Anses (Anses, 2017).

Ainsi, compte tenu de ces limites, le CES ne retient pas les valeurs existantes et propose de construire une VTR aiguë par inhalation.

- o Construction
 - o Choix de l'étude clé et de la dose critique

Plusieurs études d'exposition contrôlée chez des volontaires mettent en évidence des effets respiratoires subjectifs ou objectifs. Deux d'entre elles sont jugées de qualité suffisante pour construire une VTR : Cole *et al.* (1977) et Sundblad *et al.* (2004). L'étude de Cole *et al.* (1977) met en évidence des effets objectifs sur la fonction respiratoire dès 150 ppm chez 18 volontaires faisant de l'exercice (augmentation de la fréquence respiratoire moyenne, diminution du volume minute, augmentation du volume courant à 150 ppm uniquement) (NOAEC⁴ = 101 ppm). Sundblad *et al.* (2004) ont mis en évidence uniquement quelques effets subjectifs transitoires (inconfort oculaire, odeur de solvant, mal de tête, vertige et sensation d'intoxication) à la plus faible dose (5 ppm) alors que l'intégralité des effets subjectifs était notée à 25 ppm chez des volontaires exposés 3 h avec une alternance de repos et d'exercice physique augmentant la ventilation pulmonaire. Aucun effet objectif (spirométrie, hyperréactivité bronchique, concentration d'interleukines IL-6 et 8, modification de la composition cellulaire dans les liquides de lavage nasal, modification de la numération différentielle leucocytaire dans le sang périphérique, oxyde d'azote exhalé) n'a été mis en évidence à la plus forte concentration de 25 ppm, représentant donc le NOAEC concernant les effets respiratoires de l'ammoniac.

D'autres études concluent à une absence d'effet respiratoire objectif à des concentrations comprises entre 16-20 et 50 ppm (Verberk, 1977 ; MacEwen *et al.*, 1970 ; Sigurdarson *et al.*, 2004 ; Sundblad *et al.*, 2004). Une autre étude retrouve cependant des effets objectifs dès 85 ppm (augmentation de la résistance des voies aériennes) (Douglas et Coe, 1987).

Au vu de l'ensemble de ce corpus de données, le CES retient comme étude clé, l'étude de Sundblad *et al.* (2004) permettant d'identifier une absence d'effet objectif sur la fonction pulmonaire (NOAEC = 25 ppm), soutenu par l'étude de Cole *et al.* (1977). Le CES note que la dose critique se situe dans l'écart de seuil olfactif (0,04 à 53 ppm).

- o Ajustements

Aucun ajustement temporel n'a été réalisé car l'ammoniac entraîne des effets irritants locaux qui seraient dépendants de la concentration plutôt que de la dose totale et/ou de la durée d'exposition. Aucun ajustement allométrique n'est nécessaire, l'étude clé étant réalisée chez l'Homme.

⁴ No Observed Effect Concentration

o Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir d'une NOAEC_{ADJ} de 25 ppm a été effectué à l'aide d'un facteur d'incertitude interindividuelle (UF_H) de 3. La majorité des études sur volontaires ont été réalisées sur de petits échantillons d'individus en bonne santé. Plusieurs études d'exposition humaine contrôlée n'ont pas mis en évidence de différence de sensibilité respiratoire à l'ammoniac entre des individus sains et des individus présentant une pathologie respiratoire (Mac Lean *et al.*, 1979 ; Sigurdason *et al.*, 2004 ; Petrova *et al.*, 2008 ; Pachara *et al.*, 2017). Le NRC⁵ considère qu'il n'est pas attendu une réponse différente chez les asthmatiques par rapport aux non asthmatiques (NRC, 2007).

Deux études ont mis en évidence des irritations sensorielles plus importantes chez des volontaires naïfs (non familiers avec l'odeur ou les effets de l'ammoniac) par rapport à des volontaires non naïfs (Verberk, 1977 ; Ihrig *et al.*, 2006).

Cependant, malgré l'absence d'étude permettant la comparaison des effets de l'ammoniac au niveau respiratoire entre l'adulte et l'enfant, on peut supposer que les enfants peuvent être plus vulnérables aux agents corrosifs que les adultes en raison du diamètre plus petit de leurs voies aériennes (ATSDR, 2004), ce qui justifie l'application d'un facteur d'incertitude de 3.

o Proposition de VTR aiguë par inhalation

$$\text{VTR} = 5,9 \text{ mg.m}^{-3} \text{ (8,3 ppm)}$$

Dans le cadre des VTR et en lien avec les scénarios généralement pris en compte en évaluation des risques sanitaires chez l'Homme, l'Anses considère que la durée d'application des VTR pour les expositions aiguës est de 1 à 14 jours. Cependant, pour les substances irritantes telles que l'ammoniac, le CES décide de retenir une durée d'application de 24 h.

Le CES attire cependant l'attention sur le fait que cette VTR ne protège pas d'effets liés à d'éventuels pics d'exposition.

o Niveau de confiance

Le niveau de confiance global **moyen/fort** a été attribué à cette VTR aiguë en se basant sur les 4 critères : la nature et la qualité des données (niveau de confiance fort), le choix de l'effet critique et le mode d'action (niveau de confiance fort), le choix de l'étude clé (niveau de confiance moyen) et le choix de la dose critique (niveau de confiance moyen).

■ VTR chronique

o Choix de l'effet

Suite à une exposition par inhalation, le système respiratoire constitue l'organe cible de l'ammoniac aussi bien chez l'Homme que chez l'animal. Des études transversales en milieu professionnel ont mis en évidence une toxicité respiratoire chez l'Homme, en particulier des modifications de la fonction pulmonaire et une augmentation de la prévalence des symptômes respiratoires (toux, oppression thoracique, écoulement nasal, expectorations, dyspnée, sifflement, asthme, ...). Ces études sont confortées par les études chez des travailleurs exposés à l'ammoniac en tant que produit désinfectant ou de nettoyage, en milieu agricole, les études d'exposition contrôlée et les études animales qui mettent également en évidence des effets sur l'appareil respiratoire.

Ainsi, le CES a décidé de retenir comme effet critique les effets respiratoires.

⁵ National Research Council

o Analyse des VTR existantes

Les 4 VTR chroniques recensées pour l'ammoniac sont toutes fondées sur des effets respiratoires et sur la même étude clé, de bonne qualité, Holness *et al.* (1989) (étude épidémiologique en milieu professionnel), ne mettant pas en évidence d'effet sur la fonction pulmonaire.

Les différences entre les VTR proposées reposent sur :

- Les études retenues comme études support : L'OEHHA a retenu comme étude support l'étude de Broderson *et al.* (1976) conduite chez des rats. L'US EPA et le TCEQ ont retenu comme études support des études chez des travailleurs : Rahman *et al.* (2007), Ballal *et al.* (1998) et, uniquement pour l'US EPA, Ali *et al.* (2001).
- L'ajustement temporel journalier et horaire par l'ATSDR *versus* journalier et respiratoire (volume respiratoire plus élevé au moment de l'activité professionnelle qu'au repos) par l'US EPA, le TCEQ et l'OEHHA. L'ajustement temporel journalier et respiratoire a été considéré comme pertinent par le CES lorsqu'on part d'une étude en milieu professionnel ;
- L'application d'un facteur d'incertitude de 3 sur le manque de données par l'ATSDR. Le CES considère les données disponibles sur l'ammoniac suffisantes et par conséquent, il n'est pas nécessaire d'ajouter un facteur d'incertitude supplémentaire pour prendre en compte le manque de données ;
- La détermination de la concentration critique. L'OEHHA et l'ATSDR ont retenu comme NOAEC la concentration moyenne chez les travailleurs exposés, tandis que le TCEQ et l'US EPA ont considéré la concentration du groupe le plus exposé. Enfin, l'US EPA a modélisé l'exposition du groupe le plus exposé et a retenu comme dose critique la limite inférieure de l'intervalle de confiance de la concentration moyenne. La modélisation réalisée par l'US EPA a été jugée de bonne qualité et pertinente.

Ainsi, le CES retient la VTR de l'US EPA. Un facteur d'incertitude UF_H de 10, qui diffère de l' UF_H de 3 choisi par le CES pour la construction de la VTR aiguë, est appliqué. Cependant, le CES considère en effet que la variabilité inter-individuelle est plus élevée pour des expositions long terme que court terme.

o Proposition de VTR chronique par inhalation

VTR = 0,5 mg.m⁻³ (0,71 ppm)

o Niveau de confiance

Le niveau de confiance global **moyen/fort** a été attribué à cette VTR chronique en se basant sur les 4 critères : la nature et la qualité des données (niveau de confiance moyen), le choix de l'effet critique et le mode d'action (niveau de confiance fort), le choix de l'étude clé (niveau de confiance moyen) et le choix de la dose critique (niveau de confiance moyen).

■ **VTR subchronique**

Aucune VTR subchronique n'est disponible.

La seule étude exposant en subchronique des volontaires sains, Ferguson *et al.* (1977), ne peut pas être retenue à cause de la difficulté à déterminer une LOAEC/NOAEC du fait des différentes durées d'exposition et d'une incohérence entre les durées d'exposition décrites dans le texte et celles décrites dans un tableau de synthèse de la publication. Les études chez l'animal disponibles ont été réalisées avec des concentrations plus fortes que la LOAEC identifiée pour une exposition aiguë et ne sont pas d'assez bonne qualité pour dériver une VTR subchronique. **Sur la base de l'argumentaire ci-dessus, le CES n'élabore pas de VTR subchronique pour l'ammoniac et propose l'application de la VTR chronique en cas d'exposition subchronique.**

o Niveau de confiance

Le niveau de confiance global **moyen** a été attribué à cette VTR subchronique en se basant sur les 4 critères : la nature et la qualité des données (niveau de confiance faible), le choix de l'effet critique et le mode d'action (niveau de confiance fort), le choix de l'étude clé (niveau de confiance moyen) et le choix de la dose critique (niveau de confiance moyen).

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 « Valeurs sanitaires de référence » qui portent sur l'élaboration de valeurs toxicologiques de référence par voie inhalée pour l'ammoniac.

Le nature de la VTR (aigüe, subchronique, chronique) est déterminée en partie par la durée d'exposition des études toxicologiques mais également des besoins en évaluation de risques sanitaires. Le CES attire l'attention sur le fait que la VTR aigüe ne protège pas des effets dus à d'éventuels pics d'exposition.

Pour rappel, dans le cadre des VTR et en lien avec les scénarios généralement pris en compte en évaluation des risques sanitaires chez l'Homme, l'Anses distingue trois types de durée d'exposition :

- Pour les expositions aiguës, de 1 à 14 jours. Pour les substances irritantes telles que l'ammoniac, le CES décide de retenir une durée d'application de 24 h ;
- Pour les expositions subchroniques, de 15 à 364 jours ;
- Pour les expositions chroniques, à partir de 365 jours.

Le potentiel cancérigène de l'ammoniac par inhalation n'a pas été évalué chez l'Homme et l'animal. Ainsi, seule une VTR chronique à seuil est proposée.

Type de VTR	Organisme	Effet critique (étude clé)	Concentration critique	UF	VTR
VTR aiguë	Anses	Irritation respiratoire <i>Sundblad et al., 2004</i> supportée par <i>Cole et al., 1977</i>	NOAEC = 25 ppm (17,7 mg/m ³) <u>Pas d'ajustement temporel</u>	3 UF _H = 3	5,9 mg/m ³ (8,3 ppm) Niveau de confiance Moyen/fort
VTR subchronique	US EPA (2016)	Diminution de la fonction pulmonaire et augmentation des symptômes respiratoires (toux, respiration sifflante, autres symptômes liés à l'asthme) <i>Holness et al., 1989</i> supportée par <i>Rahman et al., 2007 ; Ballal et al., 1998 et Ali et al., 2001</i> : études chez des travailleurs	Modélisation de l'exposition (log normale) → limite inférieure de l'IC _{95%} du groupe d'exposition le plus exposé → NOAEC = 13,6 mg/m ³ <u>Ajustement temporel</u> NOAEC _{ADJ} = NOAEC x 5/7 x 10/20 = 4,9 mg/m ³	10 UF _H = 10	0,5 mg/m ³ (0,71 ppm) Niveau de confiance Moyen

Type de VTR	Organisme	Effet critique (étude clé)	Concentration critique	UF	VTR
VTR chronique	US EPA (2016)	Diminution de la fonction pulmonaire et augmentation des symptômes respiratoires (toux, respiration sifflante, autres symptômes liés à l'asthme) <i>Holness et al., 1989 supportée par Rahman et al., 2007 ; Ballal et al., 1998 et Ali et al., 2001 : études chez des travailleurs</i>	Modélisation de l'exposition (log normale) → limite inférieure de l'IC _{95%} du groupe d'exposition le plus exposé → NOAEC = 13,6 mg/m ³ <u>Ajustement temporel</u> NOAEC _{ADJ} = NOAEC x 5/7 x 10/20 = 4,9 mg/m ³	10 UF _H = 10	0,5 mg/m ³ (0,71 ppm) Niveau de confiance Moyen/Fort

Dr Roger GENET

MOTS-CLES

Valeur toxicologique de référence, VTR, ammoniac, inhalation, respiratoire, aiguë, subchronique, chronique

KEY WORDS

Toxicological reference value, TRV, ammonia, inhalation route, respiratory effects, acute, subchronic, chronic

Valeurs toxicologiques de référence (VTR)

**Élaboration de VTR aiguë, subchronique et chronique par voie respiratoire pour
l'ammoniac (CAS n°7664-41-7)**

Mission permanente « Valeurs toxicologiques de référence »

Saisine « 2016-SA-0118 »

RAPPORT d'expertise collective

**Comités d'experts spécialisés
« Valeurs sanitaires de référence »**

Novembre 2017

Mots clés

Valeur toxicologique de référence, VTR, ammoniac, inhalation, respiratoire, aiguë, subchronique, chronique

Key words

Toxicological reference value, TRV, ammonia, inhalation route, respiratory effects, acute, subchronic, chronic

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 :

- CES « Valeurs sanitaires de référence » – 17 octobre et 23 novembre 2017

Président

M. Fabrice MICHIELS – Médecin du travail / toxicologue à l'Association Interentreprises pour la Santé au Travail en Corrèze

Membres

M. Marc BARIL – Professeur associé à l'Université de Montréal – Compétences : Chimiste toxicologue, hygiène industrielle

M. Stéphane BINET – Pharmacien toxicologue à la direction scientifique à l'INRS – Compétences : toxicologie générale et industrielle

Mme Michèle BISSON – Responsable d'étude à l'INERIS – Compétences : Pharmacien toxicologue, toxicologie générale

Mme Anne CHEVALIER – Epidémiologiste retraitée de l'Institut de Veille Sanitaire - Compétences : épidémiologie

Mme Fatiha EL-GHISSASSI – Scientifique, Section des Monographies du CIRC (IMO) Centre International de Recherche sur le Cancer - Compétences : Docteur es science en biochimie spécialiste en cancérogénèse et génotoxicité

Mme Mounia EL-YAMANI – Responsable d'unité à Santé publique France (anciennement Institut de Veille sanitaire) – Compétences : Docteur es science en biochimie, toxicologie

M. Claude EMOND – Professeur adjoint de clinique à l'Université de Montréal – Compétences : Toxicologie, modèle PBPK, toxicocinétique, nanotoxicologie, perturbateurs endocriniens

M. Rex FITZGERALD – Expert en toxicologie réglementaire au Centre Suisse de Toxicologie Humaine Appliquée - Compétences : toxicologie de la reproduction, neurotoxicité du développement, évaluation des risques humains

M. Robert GARNIER – Médecin toxicologue, Centre antipoison de Paris - Compétences : Toxicologie médicale – Médecine du travail

Mme Perrine HOET – Professeur à l'Université Catholique de Louvain. IREC – Compétences : médecine, toxicologie industrielle et environnementale

Mme Yuriko IWATSUBO – Médecin épidémiologiste à Santé publique France (anciennement Institut de Veille sanitaire) – Compétences : épidémiologie des risques professionnels

Mme Cécile KAIRO – Évaluateur de risques sanitaires - (anciennement Institut de Veille sanitaire) Compétences : Docteur en pharmacie spécialisé en environnement, toxicologie générale et évaluation des risques

Mme Laila LAKHAL – Ingénieur INRA unité Toxalim - Compétences : Toxicologie, métabolisme, perturbateurs endocriniens

M. Frédéric LIRUSSI – Maître de Conférences des Universités– Praticien Hospitalier (MCU-PH) à l'UFR des Sciences de Santé & CHU de Dijon - Compétences : Toxicologie Clinique, Toxicologie analytique, Immunité Innée, Reprotoxicité

Mme Anne MAITRE – Professeur des Universités – Praticien Hospitalier (PU-PH) au Laboratoire de Toxicologie Professionnelle et Environnementale, CHU de Grenoble ; Responsable de l'équipe « Environnement et prédiction de la santé des populations », Laboratoire TIMC, Université Grenoble Alpes – Compétences : médecine, toxicologie, IBE, métrologie des polluants, hygiène industrielle

Mme Florence PILLIERE – Conseiller médical en toxicologie à l'INRS – Compétences : médecine du travail, toxicologie, IBE

Mme Anne PLATEL – Maître de conférences à la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille – Laboratoire de Toxicologie Génétique, Institut Pasteur de Lille - Compétences : Toxicologie, Génotoxicité, QSAR

M. Henri SCHROEDER – Enseignant chercheur à l'URAFPA, INRA USC 340, Faculté des Sciences et Technologies, Université de Lorraine - Pharmacien biologiste - Compétences : Neurotoxicité, comportement animal, développement cérébral, exposition périnatale

M. Olivier SORG – Chef de groupe de recherche à l'Université de Genève - Compétences : Docteur es science en biochimie, toxicologie expérimentale, dermatotoxicologie

M. Jérôme THIREAU – Chargé de recherche au CNRS - Compétences : Docteur es science, physiologie animale, biologie cellulaire, cardiotoxicité

M. Claude VIAU – Professeur associé à l'université de Montréal – Compétences : Toxicologie, IBE, hygiène industrielle, métrologie des polluants

M. Raymond VINCENT - Retraité (anciennement Chargé de mission à la Direction Déléguée aux Applications (INRS)) - Compétences : chimie, métrologie des polluants, évaluation des risques professionnels

- CES « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » – 15 septembre, 9 décembre 2016

Président

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

Vice-président

M. Dominique LAFON – Médecin toxicologue chez Nexter Group – Médecine du travail, toxicologie, reprotoxicité

Membres

M. Marc BARIL - Professeur associé à l'Université de Montréal – Chimiste toxicologue, VLEP

M. Sylvain BILLET – Enseignant chercheur / maître de conférence en toxicologie à l'Université du Littoral Côte d'Opale – Toxicologie respiratoire, nanomatériaux

Mme Michèle BISSON – Responsable d'étude à l'INERIS – Pharmacien toxicologue, toxicologie générale - VTR

Mme Anne CHEVALIER – Épidémiologiste retraitée de l'Institut de Veille Sanitaire

M. François CLINARD – Épidémiologiste à l'Institut de Veille Sanitaire – Pharmacien toxicologue, épidémiologie, évaluation des risques sanitaires

Mme Fatiha EL-GHISSASSI – Scientifique, Section des Monographies de IARC (IMO) Centre International de Recherche sur le Cancer - Docteur es science en biochimie spécialiste en cancérogénèse et génotoxicité

Mme Mounia EL-YAMANI – Responsable d'unité à l'Institut de Veille sanitaire – Docteur es science en biochimie, toxicologie, VLEP

M. Claude EMOND – Professeur adjoint de clinique à l'Université de Montréal – Toxicologie, modèle PBPK, toxicocinétique, nanotoxicologie, perturbateurs endocriniens

M. Guillaume GARCON – Professeur de toxicologie à l'Université de Lille 2 – Toxicologie générale, cancérologie, modèles expérimentaux, toxicologie respiratoire, pollution atmosphérique

M. Ludovic LE HEGARAT – Chef d'unité adjoint Toxicologie des contaminants - Anses – Laboratoire de Fougères- Toxicologie, génotoxicité, nanomatériaux

Mme Véronique MALARD – Ingénieur chercheur en toxicologie au CEA, Centre de Cadarache. Docteur es science – Toxicologie « in vitro », biologie cellulaire, nanotoxicologie, protéomique.

M. Fabrice MICHIELS – Médecin du travail / toxicologue à l'Association Interentreprises pour la Santé au Travail 19

M. Jean-Paul PAYAN – Chef du laboratoire Pénétration Cutanée, Cinétique et Métabolisme à l'INRS, Nancy – Pharmacien toxicologue, toxicocinétique

M. Henri SCHROEDER – Enseignant chercheur à l'URAFPA, INRA USC 340, Faculté des Sciences et Technologies, Université de Lorraine - Pharmacien biologiste - Neurotoxicité, comportement animal, développement cérébral, exposition périnatale

M. Alain SIMONNARD – Chef de département à l'INRS, Nancy - Pharmacien toxicologue, toxicologie générale et reprotoxicité, anatomopathologie

M. Olivier SORG – Chef de groupe de recherche à l'Université de Genève – Docteur es science en biochimie, toxicologie expérimentale, dermatotoxicologie

Mme Lydie SPARFEL – Professeur à l'Université de Rennes 1 / IRSET 'Institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail' UMR INSERM 1085– Pharmacien Toxicologue, immunotoxicologie, toxicogénomique, cancérologie, biologie cellulaire et moléculaire

M. Jérôme THIREAU – Chargé de recherche au CNRS – Docteur es science, physiologie animale, biologie cellulaire, cardiotoxicité

RAPPORTEUR

M. Jérôme THIREAU – Chargé de recherche au CNRS – Docteur es science, physiologie animale, biologie cellulaire, cardiotoxicité

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Aurélie MATHIEU-HUART – chef de projets scientifiques

Contribution scientifique

Mme Aurélie MATHIEU-HUART – chef de projets scientifiques

M. Christophe ROUSSELLE – chef d'unité

Mme Clémence VARRET – chargée de projets scientifiques

Secrétariat administratif

Mme Séverine BOIX-PETRE – Anses

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Sigles et abréviations	10
Liste des tableaux.....	12
Liste des figures	12
1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine.....	13
1.1 Contexte.....	13
1.2 Objet de la saisine.....	13
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation.....	14
1.4 Prévention des risques de conflit d'intérêt	14
2 Informations générales.....	15
2.1 Identification de la substance	15
2.2 Propriétés physico-chimiques	15
2.3 Classifications.....	16
2.4 Sources et utilisations	16
3 Synthèse des données toxicologiques	18
3.1 Toxicocinétique.....	18
3.2 Toxicité aiguë	19
3.2.1 Effets aigus	19
3.2.1.1 Données humaines	19
3.2.1.2 Données animales.....	21
3.2.2 Irritation	22
3.2.2.1 Données humaines	22
3.2.2.2 Données chez l'animal	33
3.2.3 Sensibilisation	34
3.3 Toxicités subchronique et chronique.....	34
3.3.1 Effets respiratoires	34
3.3.1.1 Données chez l'Homme	34
3.3.1.2 Données chez l'animal	41
3.3.2 Effets systémiques.....	43
3.4 Effets sur la reproduction et le développement.....	44
3.5 Génotoxicité	45

3.6	Cancérogénicité	46
3.7	Populations sensibles	46
4	Recueil des valeurs toxicologiques de référence	48
4.1	VTR aiguës par inhalation	48
4.2	VTR subchronique par inhalation	52
4.3	VTR chroniques par inhalation.....	53
4.3.1	VTR à seuil	53
4.3.2	VTR sans seuil pour les effets cancérogènes	57
5	Proposition de VTR aiguë par voie respiratoire	58
5.1	Choix de l'effet critique.....	58
5.2	Analyse des VTR existantes	58
5.3	Construction de la VTR aiguë.....	59
5.3.1	Choix de l'étude clé et de la dose critique	59
5.3.2	Ajustement temporel	62
5.3.3	Ajustement allométrique	63
5.3.4	Choix des facteurs d'incertitude.....	63
5.3.5	Proposition de VTR aiguë par voie respiratoire	63
5.3.6	Niveau de confiance	64
6	Proposition de VTR chronique par voie respiratoire	65
6.1	Choix de l'effet critique.....	65
6.2	Analyse des VTR existantes	65
6.3	Proposition de VTR chronique par voie respiratoire	66
6.4	Niveau de confiance.....	67
7	Proposition de VTR subchronique par voie respiratoire	68
7.1	Proposition de VTR subchronique.....	68
7.2	Niveau de confiance.....	68
8	Conclusions du CES.....	70
9	Bibliographie.....	72
ANNEXES		76

Annexe 1 : Lettre de saisine.....77

Sigles et abréviations

AEGL	Acute Exposure Guideline Level
Anses	Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation environnement travail
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
BMC	Benchmark Concentration
BMCL	Limite inférieure de l'intervalle de confiance de la benchmark concentration
CES	Comité d'Experts Spécialisés
CL ₅₀	Concentration Létale 50 : concentration létale qui provoque 50% de mortalité dans la population d'organismes étudiée
CLP	Classification, Labelling, Packaging (classification et étiquetage des produits)
CPT	Capacité pulmonaire totale
CV	Capacité vitale
CVF	Capacité vitale forcée
DEP	Débit expiratoire de pointe
DGS	Direction générale de la santé
DLCO	Capacité pulmonaire de diffusion du dioxyde de carbone
ECHA	Agence européenne des produits chimiques
FPI	Freiburger Persönlichkeits Inventar
HMGB-1	High mobility-group-protein-1
IC _{95%}	Intervalle de confiance à 95%
ICPE	Installation classée pour la protection de l'environnement
IL	Interleukine
INERIS	Institut National Environnement Industriel et Risques
INF	Interféron
IPCS	International Programme on Chemical Safety
LOAEC	Lowest Observed Adverse Effect Concentration (= Concentration minimale entraînant un effet néfaste observé)
MRL	Minimal Risk Level
MRM	Mycoplasme respiratoire humain
NH ₃	Ammoniac
NO	Monoxyde d'azote
NOAEC	No Observed Adverse Effect Concentration (= Concentration maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé)
NRC	National Research Council
OEHHA	Office of Environmental Health Hazard Assessment (Californie - États-Unis)
OMS	Organisation Mondiale de la santé
PANAS	Positive And Negative Affectivity Schedule
RD ₅₀	Concentration qui entraîne une diminution de 50 % de la fréquence respiratoire

REL	Risk Exposure Level
RfC	Reference Concentration
SPES	Swedish Performance Evaluation System
TCEQ	Texas Commission on Environmental Quality
TNF	Tumor necrosis factor (= facteur de nécrose tumorale)
UF	Facteur d'incertitude (= Uncertainty Factor)
UF _D	Facteur d'incertitude lié 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
US EPA	United States Environmental Protection Agency (États-Unis)
VEMS	Volume expiratoire maximum seconde
VIMS	Volume inspiratoire forcé en 1 seconde
VTR	Valeur Toxicologique de Référence

Liste des tableaux

Tableau 1 : Identification de la substance	15
Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques.....	15
Tableau 3 : Seuils olfactifs (OMS-IPCS, 1986 ; ATSDR, 2004 ; NRC, 2007 ; TCEQ, 2015 ; US EPA, 2016)	16
Tableau 4 : Synthèse des CL ₅₀ (OMS-IPCS, 1986 ; INERIS, 2003 ; ATSDR, 2004 ; NRC, 2007 ; Pauluhn, 2013)	22
Tableau 5 : Synthèse des études chez volontaires réalisées avec une exposition aiguë contrôlée (OMS-IPCS, 1986 ; INERIS, 2003 ; ATSDR, 2004 ; NRC, 2007 ; TCEQ, 2015 ; US EPA, 2016).....	24
Tableau 6 : Synthèse des études chez l'Homme en milieu industriel mettant en évidence des effets respiratoires (US EPA, 2016).....	35
Tableau 7 : Synthèse des études chez l'Homme mettant en évidence des effets respiratoires de l'ammoniac en tant que produit d'entretien (US EPA, 2016)	38
Tableau 8 : Synthèse des études répétées chez l'animal (US EPA, 2016)	41
Tableau 9 : Synthèse des données de génotoxicité de l'ammoniac (ATSDR, 2004)	45
Tableau 10 : Scores moyen des réponses subjectives des volontaires « experts » et « non experts » à l'ammoniac (NRC, 2007).....	49
Tableau 11 : Concentrations issues des études clés retenues par l'OEHHA et ajustées sur 1 heure	49
Tableau 12 : VTR aiguës par inhalation pour l'ammoniac.....	52
Tableau 13 : Synthèse des VTR chroniques par voie respiratoire pour l'ammoniac	53
Tableau 14 : Distribution des fréquences issues de l'étude d'Holness <i>et al.</i> (1989).....	56
Tableau 15 : Études permettant de construire une VTR aiguë	60
Tableau 16 : Scores des symptômes notés par des volontaires exposés 3 heures à l'ammoniac (Sundblad <i>et al.</i> , 2004)	62
Tableau 17 : VTR par voie respiratoire pour l'ammoniac	71

Liste des figures

Figure 1 : BMC et BMCL dérivées par l'OEHHA	50
---	----

1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine

1.1 Contexte

Une valeur toxicologique de référence, ou VTR, est un indice toxicologique qui permet de qualifier ou de quantifier un risque pour la santé humaine. Elle établit le lien entre une exposition à une substance toxique et l'occurrence d'un effet sanitaire indésirable. Les VTR sont spécifiques d'une durée d'exposition (aiguë, subchronique ou chronique) et d'une voie d'exposition (orale ou respiratoire). La construction des VTR diffère en fonction des connaissances ou des hypothèses formulées sur les mécanismes d'action des substances. Actuellement, l'hypothèse par défaut est de considérer une relation monotone entre l'exposition, ou la dose, et l'effet, ou la réponse. En l'état actuel des connaissances et par défaut, on considère généralement que, pour les effets non cancérogènes, la toxicité ne s'exprime qu'au-delà d'un seuil de dose (Anses, 2017).

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

- choix de l'effet critique ;
- choix d'une étude de bonne qualité scientifique permettant généralement d'établir une relation dose – réponse ;
- choix ou construction d'une dose critique à partir des doses expérimentales et/ou des données épidémiologiques ;
- application de facteurs d'incertitude à la dose critique pour tenir compte des incertitudes.

L'élaboration des VTR suit une approche très structurée et exigeante qui implique des évaluations collectives par des groupes de spécialistes.

1.2 Objet de la saisine

Dans le cadre des évaluations de risques réalisées dans le traitement des dossiers relatifs aux installations classées pour la protection de l'environnement (ICPE) ou à la gestion des sites et sols pollués, les Agences régionales de santé (ARS) ou les bureaux d'étude remontent à la Direction générale de la santé (DGS) des questions relatives au choix des VTR de certaines substances. Ce choix s'effectue au regard de la note d'information N° DGS/EA1/DGPR/2014/307 du 31 octobre 2014 relative aux modalités de sélection des substances chimiques et de choix des VTR pour mener les évaluations des risques sanitaires dans le cadre des études d'impact et de la gestion des sites et sols pollués.

Dans cette note, l'Anses a été désignée comme agence d'expertise pour le choix et la construction des VTR. Dans la gestion de certains dossiers, le choix de la VTR peut s'avérer crucial pour

l'évaluation des risques et faire basculer le risque d'acceptable à inacceptable. Cette situation s'est déjà présentée plusieurs fois dans le cadre de demande d'autorisation d'exploiter d'ICPE rejetant de l'ammoniac.

Ainsi, la DGS a saisi l'Anses pour sélection ou construire des VTR aiguë, subchronique et chronique par inhalation pour l'ammoniac.

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié l'instruction de cette saisine au comité d'experts spécialisé (CES) « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » jusqu'en août 2017 puis au CES « Valeurs sanitaires de référence ».

Les travaux d'expertise du rapporteur ont été soumis régulièrement aux CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Le rapport produit par le rapporteur tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES.

Ces travaux sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires.

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) »

1.4 Prévention des risques de conflit d'intérêt

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 <https://dpi.sante.gouv.fr>.

2 Informations générales

2.1 Identification de la substance

Tableau 1 : Identification de la substance

Nom	Ammoniac
Numéro CAS	7664-41-7
Numéro EINECS	231-635-7
Synonymes	Ammoniac Gaz ammoniac Ammoniac anhydre
Formule	NH ₃

2.2 Propriétés physico-chimiques

L'ammoniac est un gaz incolore suffocant et piquant dont les principales propriétés physico-chimiques sont présentées dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques

	Valeur	Référence
Forme physique	Gaz	US EPA, 2016
Masse molaire	17,03 g/mol	NRC, 2007 ; TCEQ, 2015 ; US EPA, 2016
Point d'ébullition	-33,3°C	ATSDR, 2004 ; TCEQ, 2015 ; US EPA, 2016
Point de fusion	-77,7°C	OMS-IPCS, 1986 ; TCEQ, 2015 ; US EPA, 2016
Pression de vapeur	7,51.10 ³ mm Hg à 25°C 8,5 atm. à 20°C	TCEQ, 2015 ; US EPA, 2016 NRC, 2007
Densité liquide	0,7714 g/L à 25 °C	US EPA, 2016
Densité gazeuse	0,5967 (air = 1)	TCEQ, 2015 ; US EPA, 2016
Solubilité dans l'eau	4,28.10 ⁵ mg.L ⁻¹ à 24°C	ATSDR, 2004 ; TCEQ, 2015 ; US EPA, 2016
Solubilité dans les solvants organiques	Soluble dans l'éthanol, le chloroforme et l'éther	US EPA, 2016
Constante de Henry	1,61.10 ⁻⁵ atm.m ³ .mol ⁻¹ à 25°C	US EPA, 2016
Log Kow	0,23 (méthode de Meylan et Howard 1995) -1,14 à 25°C (valeur estimée)	TCEQ, 2015
Facteurs de conversion (dans l'air à 20°C)	1 ppm = 0,707 mg.m ⁻³ 1 mg.m ⁻³ = 1,414 ppm	ATSDR, 2004 ; US EPA, 2016

Les seuils olfactifs rapportés sont très variables : d'environ 0,04 à 53 ppm (0,03 à 37,5 mg.m⁻³) (Tableau 3).

Tableau 3 : Seuils olfactifs (OMS-IPCS, 1986 ; ATSDR, 2004 ; NRC, 2007 ; TCEQ, 2015 ; US EPA, 2016)

Référence	Seuil (ppm)
DallaValle & Dudley, 1939	52
Henderson et Haggard, 1943	53
Carpenter <i>et al.</i> , 1948	1
Saifutdinov, 1966	0,7 (individu le plus sensible)
Leonardos <i>et al.</i> , 1969	46,8
MacEwen <i>et al.</i> , 1970	> 30
Stephens, 1971	3,9
Ferguson <i>et al.</i> , 1977	10-20 (en présence d'autres odeurs)
Amoore et Hautala, 1983	25
AIHA, 1989	17 (moy. géométrique ; 0,041 -53)
Devos <i>et al.</i> , 1990	5 (moyenne)
Pierce, 1994	5-53
Budavari <i>et al.</i> , 1996	53
Michaels, 1999	0,04-57
Van Doorn, 2002	0,15 - 1,59 (selon les méthodes)
Van Thriel <i>et al.</i> , 2006	0,05 (médiane)
O-Neil <i>et al.</i> , 2006	53
Smeets <i>et al.</i> , 2007	2,6 (moyenne)

2.3 Classifications

L'ammoniac anhydre possède une classification CLP harmonisée :

- Gaz sous pression
- Gaz inflammable de catégorie 2 – H221 (gaz inflammable)
- Corrosion / irritation cutanée de catégorie 1B – H314 (Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves)
- Toxicité aiguë de catégorie 3 – H331 (Toxique par inhalation)
- Danger pour le milieu aquatique – toxicité aiguë de catégorie 1 – H400 (très toxique pour les organismes aquatiques)

2.4 Sources et utilisations

L'ammoniac est présent naturellement dans l'environnement du fait de son rôle dans le cycle de l'azote entre les milieux aquatique et terrestre. Du fait de sa libération lors de la décomposition de matières organiques, l'ammoniac est un sous-produit de nombreuses activités agricoles et industrielles. La majeure partie de l'ammoniac a cependant pour origine l'activité humaine. Il est utilisé tel quel ou pour la fabrication de composés d'ammonium.

Il est produit et/ou importé dans l'Union Européenne à hauteur de 10 à 100 millions de tonnes par an (ECHA, 2017). Utilisé majoritairement comme engrais, il trouve également une application dans de nombreux autres domaines industriels : dans l'industrie chimique comme agent intermédiaire pour la synthèse de substances chimiques ou de nylon et de fibres synthétiques, en tant que

produit de revêtement, réfrigérant, régulateur de pH et produit de traitement de l'eau pour éviter les mauvaises odeurs, comme nettoyant ainsi que dans les produits cosmétiques et d'hygiène corporelle. Il est également utilisé dans les domaines tels que l'industrie pétrochimique, des textiles, cuirs et fourrures, des produits à base de pâte à papier, des produits plastiques et aimants, de la métallurgie et des produits en bois. Dans le domaine agricole, il est utilisé pour produire des engrais mais également pour contrôler le mûrissement des fruits stockés et protéger le maïs de la moisissure. Dans le domaine pharmaceutique il est utilisé pour la fabrication de certains médicaments. L'ammoniac peut être rejeté dans l'environnement suite à son utilisation dans des procédés industriels et peut également se retrouver dans des articles complexes tels que des machines et produits électroniques (ordinateurs, caméras, lampes, réfrigérateurs, machines à laver par exemple) (ECHA, 2017).

L'ammoniac est un composé clé du cycle global de l'azote. Il se forme dans les organismes lors de la décomposition des matières organiques.

Les sources d'exposition sont aussi bien d'origines humaine, animale que naturelle.

L'ammoniac est retrouvé dans les sols et les sédiments où sa concentration est difficilement mesurable en raison d'un équilibre constant avec les nitrates et les autres substances participant au cycle de l'azote (OMS-IPCS, 1986). D'après Krajenbrink *et al.* (1988), des concentrations comprises entre 0 et 2,3 mg d'ammoniac/kg ont été mesurées à 2 mètres de profondeur dans le sol d'une forêt, et à 12,6 mètres de profondeur la teneur était inférieure à la limite de quantification (non précisée dans l'étude). Beauchamp *et al.* (1982) ont mesuré une concentration initiale comprise entre 1 et 5 mg.kg⁻¹ d'ammoniac au cours de 4 années d'affilées dans un champ à 0-10 cm de profondeur. Après épandage de fumier de vaches, cette valeur montait à 3349 mg.kg⁻¹ au bout de 24 heures et de 2 à 848 mg.kg⁻¹ après 5 jours (INERIS, 2012).

En France, l'ammoniac est considéré comme un polluant de l'air et de l'eau. Dans l'air, il peut être retrouvé à l'état gazeux (NH₃) ou dissous dans la pluie, le brouillard et les nuages, ou sous forme d'ion ammonium (NH₄⁺) dans les particules et les aérosols et sa concentration en Europe était comprise entre 0,42 et 3,91 10⁻³ mg.m⁻³ dans les années 1980 (INERIS, 2012). Dans l'eau, l'ammoniac peut être retrouvé sous forme non ionisée ou d'ion ammonium, notamment dans les eaux de surfaces, les fleuves et les rivières. La concentration de [NH₄⁺] mesurée en France en 2005 (INERIS, 2006) était comprise entre 0,05 mg.L⁻¹ (limite de quantification) et 6 mg.L⁻¹ dans les cours d'eau, entre 0,010 mg.L⁻¹ (limite de quantification) et 0,760 mg.L⁻¹ dans les plans d'eau et 0,02 mg.L⁻¹ (limite de quantification) et 0,59 mg.L⁻¹ dans les eaux littorales/de transition.

3 Synthèse des données toxicologiques

L'élaboration des VTR suit une approche très structurée et exigeante qui implique des évaluations collectives s'appuyant sur le jugement d'experts (Anses, 2017).

La synthèse des données toxicologiques a été rédigée sur la base des rapports de synthèse réalisés par des organismes reconnus au niveau international (OMS-IPCS, 1986 ; ATSDR, 2004 ; NRC, 2007, US EPA, 2016) complétés par une recherche bibliographique réalisée sur la période 2015-2017. Les termes suivants ont été utilisés : ammonia, toxicity, olfaction, irritation, inhalation, respiratory.

3.1 Toxicocinétique

- **Absorption**

Les données humaines suggèrent que seules de petites quantités d'ammoniac sont absorbées dans la circulation systémique (Silverman *et al.*, 1949 ; OMS-IPCS, 1986). Une étude chez des volontaires montre que l'ammoniac, quelles que soient les concentrations testées dans l'air (40-350 mg.m⁻³, 57-500 ppm), est retenu dans sa quasi-totalité dans la muqueuse nasale (83-92%) pendant une exposition jusqu'à 120 secondes (Landahl et Herrmann, 1950 citée dans ATSDR, 2004 ; US EPA, 2016). Cependant, une exposition de 10-27 minutes à 350 mg.m⁻³ (500 ppm) d'ammoniac entraînait une rétention plus faible (4-30%), avec des concentrations dans l'air expiré de 244-279 mg.m⁻³ (350-400 ppm) en fin d'exposition suggérant une adaptation ou une saturation de l'absorption (Silverman *et al.*, 1949). L'absence de changement dans les composés azotés du sang et les composés ammoniac-urinaires supporte l'hypothèse d'une absorption limitée dans la circulation systémique (Silverman *et al.*, 1949). L'irritation nasale et pharyngée suggère que l'ammoniac est retenu préférentiellement dans les voies respiratoires supérieures.

Les données animales (lapin, chien) supportent l'existence d'une forte rétention nasale entraînant une protection relative des voies respiratoires inférieures (Egle, 1973 ; Dalhamn, 1963 ; Boyd *et al.*, 1944 cités dans ATSDR, 2004 ; US EPA, 2016).

L'exposition de rats à 219-818 mg.m⁻³ (310-1 157 ppm) pendant 24 h a entraîné une augmentation statistiquement significative du taux d'ammoniac sanguin dans les 8 heures suivant l'exposition qui est revenu à la normale dans les 12 heures après l'exposition (Schaerdel *et al.*, 1983 cité dans ATSDR, 2004 et US EPA, 2016).

Au niveau oculaire, l'ammoniac est facilement absorbé. Il diffuse en quelques secondes dans la cornée, le cristallin, le système de drainage et la rétine (Beare *et al.*, 1988. Jarudi et Golden, 1973 cités dans ATSDR, 2004).

- **Distribution**

Les données disponibles sur l'ammoniac produit de façon endogène suggèrent que le NH_4^+ absorbé par inhalation serait distribué dans tous les compartiments du corps *via* le sang et il y serait utilisé dans la synthèse des protéines. L'excrétion urinaire et la conversion de l'ammoniac en glutamine et en urée permettraient de réduire les concentrations tissulaires d'ammoniac. En cas de surcharge en ammoniac au niveau d'un organe, le NH_4^+ est distribué à d'autres tissus.

L'ammoniac est présent dans la circulation fœtale. Des études *in vivo* chez plusieurs espèces animales et *in vitro* sur le placenta humain suggèrent que l'ammoniac est produit dans le placenta utérin et est libéré dans les circulations fœtale et maternelle (US EPA, 2016).

- **Métabolisme et élimination**

L'ammoniac et l'ion ammonium sont métabolisés en urée et en glutamine principalement dans le foie. Cependant, il peut également être rapidement converti en glutamine dans le cerveau et d'autres tissus (ATSDR, 2004 ; US EPA, 2016).

L'ammoniac absorbé est principalement excrété par les reins sous forme d'urée et de composés urinaires d'ammonium, et dans une moindre mesure sous forme d'urée dans les fèces. L'ammoniac est également éliminé à travers la peau *via* la production de la sueur. Enfin, l'ammoniac est éliminé sous forme inchangée dans l'air expiré (ATSDR, 2004 ; US EPA, 2016).

Des études montrent que de faibles concentrations d'ammoniac inhalé sont temporairement dissoutes dans le mucus des voies respiratoires supérieures, puis un fort pourcentage de celles-ci est libéré dans l'air expiré. Après exposition à 500 ppm (353,5 mg.m^{-3}) d'ammoniac pendant 10 à 27 minutes, des hommes sains ont éliminé 70 à 80% de l'ammoniac inspiré par cette voie (Silverman *et al.*, 1949). Plusieurs études chez des volontaires non exposés ont rapporté des concentrations médianes d'ammoniac dans l'air expiré au niveau du nez : 0,059-0,078 mg.m^{-3} (n = 3 ; Smith *et al.*, 2008 cité dans US EPA, 2016), 0,0092-0,1 mg.m^{-3} (n = 20, Schmidt *et al.*, 2013 cité dans US EPA, 2016) et 0,013 à 0,046 mg.m^{-3} (Larson *et al.*, 1977 cité dans US EPA, 2016). L'ammoniac a également été détecté dans l'air expiré chez l'animal : 10 à 353 ppb (0,007 – 0,25 mg.m^{-3} ; moyenne = 78 ppb = 0,06 mg.m^{-3}) chez les rats non exposés (Barrow et Steinhagen, 1980 cité dans ATSDR, 2004 et US EPA, 2016).

3.2 Toxicité aiguë

3.2.1 Effets aigus

3.2.1.1 Données humaines

La littérature recense de nombreux cas de décès dus à l'inhalation d'ammoniac, principalement suite à une exposition accidentelle aiguë (Caplin, 1941 ; Mulder et Van der Zalm, 1967 ; Courturier *et al.*, 1971 ; Heifer, 1971 ; Walton, 1973 ; Sobonya *et al.*, 1977 ; Close *et al.*, 1980 ; Price *et al.*, 1983 ; Arwood *et al.*, 1985 ; Burns *et al.*, 1985 ; Yang *et al.*, 1987 ; Weiser et MacKenroth, 1989 ; George *et al.*, 2000 cités dans ATSDR, 2004 et NRC, 2007). Une exposition aiguë entre 5 000 et

10 000 ppm (3 535 et 7 070 mg.m⁻³) est rapidement mortelle chez l'Homme (Henderson et Haggard, 1943 ; Mulder et Van der Zalm, 1967 cités dans ATSDR, 2004 et NRC, 2007), et une exposition entre 2 500 et 4 500 ppm (1767,5 et 3 181,5 mg.m⁻³) l'est au bout de 30 minutes (Helmers *et al.*, 1971 ; Millea *et al.*, 1989 cités dans ATSDR, 2004). Pour les sujets ayant survécu plusieurs jours ou semaines, la mort peut survenir secondairement, à la suite de surinfection ou de complications (Sobonya, 1977 ; Hoeffler *et al.*, 1982 cités dans ATSDR, 2004 et NRC, 2007).

Des brûlures au niveau des tissus exposés, dont le tractus respiratoire, les yeux et la peau, ont été souvent observées après une exposition à des doses entraînant des décès. L'ammoniac entraîne ainsi de sévères irritations et des brûlures cutanées, oculaires, de la cavité buccale et du tractus respiratoire, en particulier au niveau des surfaces muqueuses, immédiatement après le contact, en raison de la conversion rapide de l'ammoniac en hydroxyde d'ammonium. Les dommages causés le long des voies respiratoires sont progressifs. Ils débutent par l'irritation de la région nasopharyngée, s'étendant jusqu'à la région trachéobronchique et enfin les régions bronchiolaires et alvéolaires (NRC, 2007). Par ailleurs, l'ammoniaque formé au contact de l'humidité respiratoire est une base forte. Elle produit des lésions tissulaires de constitution lente, s'aggravant pendant plusieurs heures, par saponification des lipides et liquéfaction des protéines.

Classiquement, du fait de son hydrosolubilité, l'ammoniac produit des lésions de l'arbre respiratoire qui prédominent au niveau des voies aériennes supérieures. Toutefois, une exposition aiguë à de fortes concentrations d'ammoniac endommage gravement le poumon (tissus bronchiolaire et alvéolaire) entraînant des lésions permanentes, voire la mort. L'inhalation de fortes concentrations d'ammoniac se caractérise par une détresse respiratoire intense liée à un bronchospasme d'intensité variable et au développement d'un œdème des muqueuses de l'ensemble du tractus respiratoire avec de la toux et une dyspnée asthmatiforme. À court terme, le pronostic dépend de l'évolution des troubles respiratoires, de l'apparition précoce éventuelle d'un œdème de la glotte entraînant une asphyxie et de l'apparition retardée d'un œdème aigu pulmonaire lésionnel après une phase de rémission apparente (INERIS, 2003). Les complications secondaires résultent des brûlures chimiques (hypersécrétion, desquamation de la muqueuse bronchique, cicatrisation fibrosante) et de leur surinfection éventuelle : initialement, ce sont des atélectasies (obstructions bronchiques par des débris et/ou des bouchons muqueux), des infections bronchiques et/ou parenchymateuses. Tardivement, les complications les plus fréquentes sont une hyperréactivité bronchique non spécifique, un asthme, un syndrome obstructif séquellaire, plus rarement, une fibrose parenchymateuse séquellaire, un emphysème, voire une bronchiolite oblitérante, des sténoses bronchiques ou des bronchectasies sont observés (NRC, 2007).

Pour de fortes concentrations n'entraînant pas la mort, les vapeurs d'ammoniac induisent des lésions oculaires (conjonctivite, brûlure de la cornée, déficience visuelle, voire cécité), des lésions au niveau de la cavité buccale et des lésions au niveau du tractus respiratoire (régions nasopharyngée et trachéobronchique). Les signes cliniques observés sont une toux, un enrouement de la voix, une aphonie, des râles, une douleur au niveau du pharynx et de la poitrine,

des sifflements pulmonaires, une hyperhémie et des œdèmes au niveau du pharynx et du larynx, une trachéite, une bronchiolite, une dyspnée et des sécrétions bronchiques purulentes. Les lésions du pharynx et/ou des régions trachéobronchiques peuvent provoquer une obstruction des voies respiratoires pouvant entraîner la mort, en absence d'aide médicale. Les dommages aux poumons (particulièrement les bronchioles) peuvent se manifester par une bronchopneumonie (NRC, 2007). Plusieurs études de cas décrivent des effets irréversibles suite à une exposition accidentelle à l'ammoniac, en particulier des syndromes obstructifs (NRC, 2007). Des effets ont été observés plusieurs années après une exposition aiguë à l'ammoniac : bronchiectasie, bronchiolite, atelectasie, emphysème, bronchite chronique et diminution des performances dans les explorations fonctionnelles respiratoires. Les effets à long terme sont considérés comme secondaires aux dommages initiaux causés par l'ammoniac.

3.2.1.2 Données animales

Les rats exposés à des concentrations létales présentent des signes de dyspnée, des larmolements, une forte salivation, de fortes sécrétions oro-nasales, des irritations oculaire et nasale, des difficultés à respirer, des hémorragies pulmonaires, une perte de poids corporel et des œdèmes pulmonaires (Appelman *et al.*, 1982 ; Perkins *et al.*, 2016). Les souris exposées à des concentrations létales montraient des irritations oculaires et nasales, une respiration difficile et haletante, des tremblements, de l'ataxie, des convulsions et des crises d'épilepsie, ainsi que des lésions histopathologiques au niveau alvéolaire (Silver et McGrath, 1948 ; MacEwen et Vernot, 1972 ; Kapeghian *et al.*, 1982 cités dans NRC, 2007).

Les rats et souris mâles semblent être plus sensibles aux effets mortels de l'ammoniac que les femelles (ATSDR, 2004 ; OEHHA, 1999a).

Le tableau ci-dessous résume les CL₅₀ pour différentes espèces.

Tableau 4 : Synthèse des CL₅₀ (OMS-IPCS, 1986 ; INERIS, 2003 ; ATSDR, 2004 ; NRC, 2007 ; Pauluhn, 2013)

Espèce	Durée d'exposition (min)	CL ₅₀ (ppm)	Références
Rat	5	26 432	Prokop'eva <i>et al.</i> , 1973
	10	37 375	Appelman <i>et al.</i> , 1982
	15	17 401	Prokop'eva <i>et al.</i> , 1973
	20	28 595	Appelman <i>et al.</i> , 1982
	20	23 672	Perkins <i>et al.</i> , 2016
	30	9 947	Prokop'eva <i>et al.</i> , 1973
	40	20 300	Appelman <i>et al.</i> , 1982
	60	11 226	Prokop'eva <i>et al.</i> , 1973
	60	16 431	Appelman <i>et al.</i> , 1982
	60	17 650	Pauluhn, 2013
	60	7 397	MacEwen et Vernot, 1972
	120	10 746	Alpatov, 1964
	240 (4 h)	6 607	Pauluhn, 2013
	960 (16h)	1 000	Weedon <i>et al.</i> , 1940
Souris	10	9 983	Silver et Mc Grath, 1948
	30	21 430	Hilado <i>et al.</i> , 1977
	60	4 788	MacEwen et Vernot, 1972
	60	4 230	Kapeghian <i>et al.</i> , 1982
	60	11 299	Prokop'eva <i>et al.</i> , 1973
	960 (16h)	1 000	Weedon <i>et al.</i> , 1940
Lapin	60	5 025	Boyd <i>et al.</i> , 1944
Chat	60	5 025	Boyd <i>et al.</i> , 1944

3.2.2 Irritation

3.2.2.1 Données humaines

Les propriétés irritantes de l'ammoniac ont été largement étudiées chez l'Homme. En effet, l'ammoniac est un gaz provoquant des irritations sévères, voire des brûlures au niveau des muqueuses cutanée, oculaire et respiratoire en raison de ses propriétés alcalines. Sa forte solubilité dans l'eau lui permet de se dissoudre sur les muqueuses, la peau et les yeux, notamment sous forme d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH), qui provoque des brûlures des tissus. À son tour, la fragmentation des protéines a pour conséquence une réponse inflammatoire qui augmente les dommages des tissus alentour (OEHHA, 1999a, ATSDR, 2004 ; NRC, 2007 ; TCEQ, 2015, US EPA, 2016).

Plusieurs études sur volontaires sont disponibles mais de qualité inégale et présentent des schémas d'exposition variés (Tableau 5). Généralement, les études sur volontaires permettent de recueillir de manière prospective des informations précises sur l'exposition comme sur les effets sanitaires dans un environnement très contrôlé. Elles peuvent être donc considérées comme plus fiables que les enquêtes d'observation. Néanmoins, il faut noter qu'il existe une variabilité dans le recueil des symptômes subjectifs. Les données issues de ces études chez différentes catégories d'individus (travailleurs, volontaires sains ou asthmatiques) confirment le caractère irritant de l'ammoniac.

Du fait de sa forte réactivité et de sa solubilité dans l'eau, l'ammoniac est un irritant respiratoire au niveau des voies aériennes supérieures à faibles doses et peut entraîner des effets au niveau des

voies respiratoires inférieures à fortes doses lorsque la région nasopharyngée est saturée. Dès 5 ppm ($3,5 \text{ mg.m}^{-3}$), quelques symptômes subjectifs tels qu'un inconfort oculaire, des maux de tête, des vertiges et une sensation d'intoxication ont été ressentis après une exposition de 3 h avec une alternance de périodes de repos et d'activité physique (Sundblad *et al.*, 2004). Pour rappel, le seuil olfactif est très variable : d'environ 0,04 à 53 ppm (0,03 à $37,5 \text{ mg.m}^{-3}$). Dès 25-50 ppm ($17,7 - 35,4 \text{ mg.m}^{-3}$) pour des expositions entre 10 min et 3 h, un plus grand nombre de symptômes subjectifs ont été observés chez des volontaires exposés au repos ou avec une alternance de périodes de repos et d'exercice physique : sensation d'irritation oculaire, nasale, au niveau de la gorge et de la poitrine, envie de tousser, odeur pénétrante, sécheresse nasale, difficulté à respirer, mal de tête, fatigue, nausée, vertige et sensation d'intoxication. Des expositions supérieures à 50 ppm ($35,4 \text{ mg.m}^{-3}$) entraînent une sensation d'irritation immédiate du nez et de la gorge. Cependant, une tolérance semble se développer suite à une exposition répétée. L'exposition par inhalation à 250 ppm ($176,8 \text{ mg.m}^{-3}$) est supportable pour la plupart des personnes pendant 30 à 60 minutes (Withers *et al.*, 1986 cité dans ATSDR, 2004). Néanmoins, dans l'étude de Verberk, tous les sujets « non experts » ont quitté la chambre d'exposition avant la fin de l'exposition à 140 ppm (99 mg.m^{-3}) d'ammoniac (2 h) considérant l'exposition intolérable (sensation d'irritation sévère de la gorge +/- toux). Une exposition aiguë à des concentrations plus élevées entraîne des effets respiratoires tels qu'une augmentation de la fréquence respiratoire, une augmentation de la résistance aérienne nasale et des modifications de paramètres ventilatoires et spirométriques dès 85 ppm ($60,1 \text{ mg.m}^{-3}$) (jusqu'à 15 secondes) (Silverman *et al.*, 1949 ; Cole *et al.*, 1977 ; MacLean *et al.*, 1979 ; Douglas et Coe, 1987). Cependant, plusieurs études n'observent pas ces effets objectifs à des concentrations à partir de 16 ppm ($11,3 \text{ mg.m}^{-3}$) (Verberk, 1977 ; MacEwen *et al.*, 1970 ; Sigurdarson *et al.*, 2004 ; Sundblad *et al.*, 2004). Les expositions accidentelles à des concentrations élevées en gaz ammoniac ont entraîné des brûlures nasopharyngées et trachéales, des obstructions des voies respiratoires et des détresses respiratoires, ainsi que des œdèmes bronchiolaires et alvéolaires (ATSDR, 2004).

L'œil est particulièrement sensible aux brûlures alcalines. Une irritation oculaire est rapportée pour une exposition à 100 ppm ($70,7 \text{ mg.m}^{-3}$) (Ferguson *et al.*, 1977), et immédiatement à 698 ppm ($493,5 \text{ mg.m}^{-3}$) (Henderson et Haggard, 1927 cité dans ATSDR, 2004). L'exposition à une concentration de 250 ppm ($176,8 \text{ mg.m}^{-3}$) est supportable pour la plupart des personnes pendant 30-60 minutes. Les symptômes observés sont un larmolement, un gonflement des paupières, une hyperhémie conjonctivale, une vision floue, des ulcérations conjonctivales et cornéennes, une cécité transitoire, des abrasions et des lésions de la cornée. L'ammoniac se combine avec l'humidité des yeux et des muqueuses pour former l'hydroxyde d'ammonium qui provoque la saponification et la liquéfaction des surfaces épithéliales humides de l'œil et peut pénétrer facilement dans la cornée et endommager l'iris et le cristallin. Une cataracte ou un glaucome peut apparaître jusqu'à 10 jours après exposition (ATSDR, 2004 ; OEHA, 1999a)

Tableau 5 : Synthèse des études chez volontaires réalisées avec une exposition aiguë contrôlée (OMS-IPCS, 1986 ; INERIS, 2003 ; ATSDR, 2004 ; NRC, 2007 ; TCEQ, 2015 ; US EPA, 2016)

Référence (Pays)	Population	Exposition	Paramètres étudiés	Résultats mesurés	Résultats subjectifs	LOAEC /NOAEC
Silverman <i>et al.</i> , 1949 (USA, Massachussetts)	Volontaires sains (n = 7 ♂)	500 ppm d' NH_3 anhydre 30 min (n = 6) 15 min (n = 1) Masque couvrant le nez et la bouche	Évaluation des fonctions respiratoires (fréquence respiratoire, volume minute avant, pendant et après), Symptômes subjectifs au niveau oculaire, bouche et tractus respiratoire supérieur. Biochimie (NH_3 , urée et N urinaire, azote non protéique, azote sanguin)	Seuls 2 sujets capables de respirer par le nez pendant 30 min. ↗ fréquence respiratoire et volume minute de 50-250% (n = 7 dont 3 immédiatement et 4 10-30 min après le début de l'exposition). Absence de modification biochimique	Plaintes subjectives : larmoiements marqués (n = 2), irritation nasale et gorge persistante jusqu'à 24h (n = 2), hypoesthésie de la peau autour du nez et de la bouche (n = 7)	LOAEC = 500 ppm
MacEwen <i>et al.</i> , 1970 (USA, Ohio)	Volontaires (n = 6 ♂)	30 et 50 ppm 10 min Chambre d'inhalation avec exposition de la tête uniquement	Évaluation des symptômes subjectifs (irritation nez et yeux) via une échelle de 1 à 5 Intensité de l'odeur via une échelle de 1 à 5	/	<u>30 ppm</u> : odeur forte et hautement pénétrante (n = 3), odeur modérée et facilement détectable (n = 2), irritation légère à juste perceptible (n = 2) ➔ Odeur 3,6/5 ; irritation 0,4/4 <u>50 ppm</u> : odeur hautement pénétrante (n = 6), irritation modérée du nez et des yeux (n = 4), irritation légère à juste perceptible (n = 1) ➔ Odeur 4/5 ; irritation 1,5/4	LOAEC = 50 ppm

Référence (Pays)	Population	Exposition	Paramètres étudiés	Résultats mesurés	Résultats subjectifs	LOAEC /NOAEC
Industrial Bio-Test Laboratories, 1973 (USA)	Volontaires (n = 10)	32, 50, 72 et 134 ppm 5 min Chambre d'exposition dynamique	Évaluation des symptômes subjectifs (sécheresse nasale, larmoiement, irritation nez, yeux, gorge et poitrine) Sévérité documentée	/	<u>32 ppm</u> : sécheresse nasale (n = 1) <u>50 ppm</u> : sécheresse nasale (n = 2) <u>72 ppm</u> : irritation nasale (n = 2), irritation oculaire (n = 3), irritation gorge (n = 3) <u>134 ppm</u> : irritation nasale (n = 7), irritation oculaire (n = 5), larmoiement (n = 5), irritation gorge (n = 8), irritation poitrine (n = 1)	NOAEC = 50 ppm LOAEC = 72 ppm
Cole et al., 1977 (Royaume-Uni)	Volontaires militaires (n = 18 ♂)	<u>Étude 1</u> : 0, 101 ppm, 206 ppm de gaz ammoniac <u>Étude 2</u> : 0, 150 ppm, 336 ppm Exposition pendant des sessions consécutives d'une ½ journée avec 2 phases d'exercice de 8 et 11 min précédé et suivi par une sessions d'exercice en présence d'air ambiant (témoin)	Fonction pulmonaire pendant l'exercice (fréquence cardiaque pendant l'effort, volume minute, volume courant, fréquence respiratoire moyenne) Irritation (subjectif)	↗ fréquence respiratoire moyenne aux 3 plus fortes doses ↘ volume minute dès 150 ppm ↗ volume courant à 150 ppm puis ↘ aux 2 plus fortes doses (même tendance lors de l'exercice)	Sensations de démangeaisons nasales et relative sécheresse de la bouche (incidence non reportée)	LOAEC = 150 ppm (signes fonctionnels respiratoires - effet réversible)

Référence (Pays)	Population	Exposition	Paramètres étudiés	Résultats mesurés	Résultats subjectifs	LOAEC /NOAEC
Verberk, 1977 (Pays-Bas)	Volontaires (n = 16 dont 8 experts connaissant les effets du NH ₃ et 8 non-experts)	50, 80, 110 et 140 ppm de gaz ammoniac (pureté > 99%) 2h à 1 semaine d'intervalle Chambre d'exposition de 25 m ³	Symptômes subjectifs recueillis toutes les 15 min (odeur, gout, irritation oculaire et gorge, gêne, toux, maux de tête) (échelle de 1 à 5) Fonction pulmonaire (CV, VEMS, VIMS) avant et après exposition Test de réponse à l'histamine (n = 13)	Pas d'effet significatif sur la fonction pulmonaire. Pas d'hyperréactivité bronchique à l'histamine. À 140 ppm, tous les sujets « non experts » ont quitté la chambre d'exposition avant les 2h considérant l'exposition intolérable (irritation sévère de la gorge +/- toux).	À partir de 50 ppm : au moins un symptôme subjectif (odeur, irritation oculaire, nez, gorge et/ou envie de tousser) avec un score ≥3/5 (= nuisance) après 30 min d'exposition Réponse plus prononcée chez les non-experts.	LOAEC = 50 ppm
Wallace, 1978 (Angleterre)	Volontaires sains (n = 7 déjà exposés professionnellement au NH ₃)	150 à 1 500 ppm (concentrations approximatives) 1 à 3 min	Non indiqué dans les rapports de synthèse	/	<u>150-200 ppm</u> : 1 ^{ers} signes irritation oculaire après 1 min <u>600 ppm</u> : larmoiement au bout de 30 secondes <u>700 ppm</u> : larmoiement au bout de quelques secondes <u>1 000 ppm</u> : larmoiement immédiat <u>1 500 ppm</u> : exposition non tolérée	LOAEC = 150 ppm
MacLean et al., 1979 (USA, Michigan)	Volontaires atopiques et non atopiques (historique de rhinite allergique et exacerbation saisonnière, réactions positives à des prick-test)	0, 100 ppm 0, 5, 10, 15, 20 ou 30 secondes Administration dans les narines	Mesures résistance aérienne nasale pendant 15 min (toutes les min pendant 5 min puis toutes les 2 min pendant 10 min)	↗ résistance nasale avec le temps d'exposition de 5 à 20 sec chez tous les volontaires Résultats similaires entre sujets atopiques ou non	/	LOAEC = 100 ppm

Référence (Pays)	Population	Exposition	Paramètres étudiés	Résultats mesurés	Résultats subjectifs	LOAEC /NOAEC
Douglas et Coe, 1987 (Angleterre)	Volontaires (n = non indiqué)	Séries de concentration (valeurs non précisées) Exposition <i>via</i> lunettes de protection (jusqu'à 15 sec.) bien ajustées ou <i>via</i> un embout buccal (10 respirations, port de pince-nez)	Seuil irritation pulmonaire et oculaire	Seuil lacrymal = 55 ppm Seuil bronchoconstriction ($\geq$ 20% de la résistance des voies aériennes) = 85 ppm	/	/
Sundblad et al., 2004 (Suède)	Volontaires sains (n = 12 ; 7 ♀, 5 ♂)	0, 5 et 25 ppm d'ammoniac (solution aqueuse 25% vaporisée) 3h (alternance toutes les 30 min repos et vélo ergomètre 50W) à minimum 1 semaine d'intervalle Chambre d'exposition de 20 m ³	Fonction pulmonaire (CV, CPT, VEMS, DEP, NO exhalé) → mesure avant et 7h après exposition Hyperréactivité bronchique (test à la méthacholine) Inconfort et irritation (odeur, symptômes oculaires et nasaux, symptômes généraux comme maux de tête, vertiges, nausée, sensation d'intoxication) <i>via</i> questionnaire (questionnaire avec échelle de 1-100, avant, pendant et 7h après l'exposition) Concentration cytokines (IL-6 et 8), composition cellulaire dans les liquides de lavage nasal, numération différentielle leucocytaire dans le sang périphérique, oxyde d'azote exhalé (prélevé avant et 7h après exposition)	Pas de modification de la fonction pulmonaire ou d'hyperréactivité bronchique, Pas de réponse inflammatoire	<u>5 ppm</u> : ↑ significative des notes attribuées à l'inconfort/irritation oculaire, odeur de solvant, mal de tête, vertige et sensation d'intoxication <u>25 ppm</u> : ↑ significative l'inconfort/irritation au niveau yeux, gorge et nez, difficulté à respirer odeur de solvant, mal de tête, fatigue, nausée, vertige et sensation d'intoxication Tous les effets observés étaient transitoires.	NOAEC = 25 ppm

Référence (Pays)	Population	Exposition	Paramètres étudiés	Résultats mesurés	Résultats subjectifs	LOAEC /NOAEC
Sigurdarson <i>et al.</i> , 2004 (USA, Iowa)	Volontaires sains (n = 6) et des asthmatiques modérés (n = 8)	16 à 20 ppm ¹ +/- 4 mg.m ⁻³ de poussières (aérosol) 30 min à 1 semaine d'intervalle minimum Chambre d'exposition avec clips sur le nez (respiration par la bouche)	Fonction pulmonaire (VEMS, DLCO, NO exhalé) avant et après exposition Hyperréactivité bronchique (challenge à la méthacholine)	<u>NH₃ seul</u> : pas d'effet sur fonction pulmonaire chez les volontaires sains et les asthmatiques <u>Poussières + NH₃ chez asthmatiques</u> : ↘ significative transitoire VEMS 10 min après l'exposition, jusqu'à 60 min et ↗ hyperréactivité bronchique	/	NOAEC = 16 ppm

¹ 16-25 ppm indiqué dans le résumé de l'article contrairement au corps du texte.

Référence (Pays)	Population	Exposition	Paramètres étudiés	Résultats mesurés	Résultats subjectifs	LOAEC /NOAEC
Ihrig <i>et al.</i> , 2006 (Allemagne)	Volontaires (n = 10 ♂ exposés fréquemment professionnellement + 33 ♂ « naïfs », i.e. non familier avec l'odeur)	Groupe principal : 0, 10, 20 et 50 ppm de vapeurs d'ammoniac (mesurées en continue), 4h/j, pendant 5 j Groupe additionnel : 20 ppm pendant 4h suivi de 2 pics 40 ppm à J4 Chambre d'exposition	Examen par un médecin avant et après chaque exposition (surface oculaire, débit d'écoulement des larmes, hyperréactivité bronchique) Symptômes subjectifs (questionnaire standardisé SPES ² avec calcul de sous-scores pour irritations, symptômes oculaires et symptômes respiratoires, intensité évaluée sur échelle de 1-5) + évaluation du bien-être (ennui, tension, plaintes, fatigue ; échelle visuelle analogique 1-7) + évaluation de la personnalité (PANAS, FPI ³)	Absence d'effet pertinent relevé par un médecin hormis 3 volontaires présentant faible hyperhémie conjonctivale à 50 ppm	Pas de variation significative des scores de symptômes Pas ↑ significative d'intensité moyenne des irritations quelle que soit la dose <u>Chez les individus « naïfs » uniquement :</u> - ↗ dose-réponse significative des scores moyens de tous les symptômes et symptômes oculaires. Même tendance pour irritation et symptômes respiratoires - ↑ dose-réponse significative ennui, tension et plaintes Influence de la personnalité (PANAS et FPI) sur signalement des symptômes (association + forte en absence ou faible exposition)	/

²Questionnaire SPES : Swedish Performance Evaluation System³ PANAS : positive and negative affectivity schedule ; FPI : Freiburger Persönlichkeits Inventar

Référence (Pays)	Population	Exposition	Paramètres étudiés	Résultats mesurés	Résultats subjectifs	LOAEC /NOAEC
Petrova <i>et al.</i> , 2008 (USA, Pennsylvanie)	Volontaires sains (n = 25) et asthmatiques modéré (n = 15)	20 concentrations nominales entre 2 et 500 ppm Durée max de 5 min, avec au moins 48h d'intervalle Canules nasales et/ou lunettes Exposition simultanée : d'un côté à l'air et de l'autre côté au NH ₃	Fonction pulmonaire (VEMS) avant, pendant et après exposition Intensité odeur, désagrément, seuil d'irritation (subjectif)	Pas de modification de la fonction pulmonaire	Seuil irritation oculaire : 133 ppm asthmatiques et 127 ppm volontaires sains Seuil irritation nasale : 167 ppm asthmatiques et 179 ppm volontaires sains Pas de différence significative entre les volontaires pour les symptômes subjectifs et les seuils d'irritation.	/
Pacharra <i>et al.</i> (2016) (Allemagne)	Volontaires sains déclarant une intolérance chimique ⁴ (n = 13) et témoins (n = 13)	0, 1,25 ; 2,5 ; 5 et 10 ppm Exposition corps entier	<u>Pré-exposition</u> : fonction pulmonaire et olfactive, Test d'association implicite des odeurs (Odor-IAT) <u>Avant et après exposition</u> : Analyses salivaires (cortisol et α -amylase) et dans liquide de lavage nasal (TNF- α et substance P) <u>Perception odeurs</u> : Scores intensité et piquant (échelle visuelle analogique 1-1000) <u>Performance cognitive</u> : évaluation mémoire de travail (3 tâches) et inhibition de réponse pendant l'exposition	Pas de modification des marqueurs salivaires et dans le liquide de lavage nasal Pas de différence des performances cognitives	↑ significative scores odeur (intensité, piquant) en fonction de la concentration chez volontaires	/

⁴ Une étude *via* internet a été conduite afin de déterminer comment les personnes déclarant une intolérance chimique étaient réparties dans la population et sélectionner des participants pour la phase expérimentale. L'étude comprenait un questionnaire démographique, 3 questionnaires pour évaluer l'intolérance chimique (TMS, CSS-SHR, negOAS), un sur l'évaluation de la personnalité (PANAS), une échelle de stress ressenti (PSS-10) et une échelle de sévérité des symptômes somatiques du questionnaire de santé (PHQ-15).

Référence (Pays)	Population	Exposition	Paramètres étudiés	Résultats mesurés	Résultats subjectifs	LOAEC /NOAEC
Pacharra <i>et al.</i> (2017) (Allemagne)	sujets présentant une rhinite allergique saisonnière (n = 19) et Volontaires sains servant de témoins (n = 18)	2,5 ppm (seuil olfactif) et 0-40 ppm (conc. variables) 4 h Chambre d'exposition (28 m ³)	Perceptions chemosensorielles (dégoût, ennui, intensité odeur, éternuements, picotements, chatouilles, brûlures, irritation nasale âcre, irritation oculaire - échelle visuelle analogique 1-1000) et symptômes aigus (questionnaire SPES, sévérité évaluée selon échelle de 0-6, 7 sous scores : symptômes non spécifiques/pré narcotiques, symptômes olfactifs, symptômes respiratoires, irritation générale, irritation nasale, irritation oculaire) évalués toutes les 30 min Clignement des yeux Cortisol salivaire, obstruction nasale (rhinomanométrie), TNF- α , substance P et HMGB-1 dans le fluide de lavage nasal, NO exhalé	↑ clignement des yeux à 0-40 ppm par rapport à 2,5 ppm, pas d'influence du statut allergique ↓ cortisol et ↑ substance P après exposition ; sans influence du statut allergique et de la concentration en NH ₃ ↑ NO exhalé chez les allergique/ témoin, pas d'influence de NH ₃ . Pas d'influence du statut allergique et du NH ₃ sur les concentrations en TNF- α et HMGB-1	↑ symptômes à 0-40 ppm par rapport à 2,5 ppm. Pas d'influence du statut allergique. ↑ sous-scores pour les symptômes olfactifs à 0-400 ppm par rapport 2,5 ppm, sans influence du statut allergique	/

CV : capacité vitale ; VEMS : volume expiratoire maximum seconde ; VIMS : volume inspiratoire forcé en 1 seconde ; NO : monoxyde d'azote ; CVF : capacité vitale forcée ;
 DEP : débit expiratoire de pointe ; DLCO : Capacité pulmonaire de diffusion du dioxyde de carbone ; CPT : capacité pulmonaire totale ; HMGB-1 : High mobility-group-protein-1

L'ammoniac est un irritant sensoriel. L'irritation sensorielle est définie comme un effet chimio-sensoriel, c'est-à-dire une interaction entre la substance chimique et les terminaisons nerveuses sensorielles du nerf trijumeau (Afsset, 2007 ; Nielsen, 2017). Il s'agit d'un processus extrêmement rapide qui se produit en l'espace de quelques millisecondes entre la stimulation et la réaction. Au regard des effets dose-réponse chez l'Homme et chez les animaux, cette irritation sensorielle apparaît à de plus faibles concentrations que l'irritation proprement dite induisant des dommages tissulaires. A de très faibles concentrations, les effets aigus tels que la gêne ou les sensations de démangeaisons ou de brûlures, piqûres sont des sensations désagréables totalement réversibles. Il apparaît cependant aujourd'hui que la stimulation nerveuse prolongée peut entraîner une réponse en cascade menant à des effets néfastes chroniques. En particulier, l'inflammation neurogénique semble jouer un rôle important : elle reflète en effet le passage d'effets purement sensoriels, réversibles, à des effets plus généraux et de mécanismes de défenses inflammatoires, comme ceux observés dans l'irritation proprement dite ou tissulaire. Par exemple, lors de la sensation de douleur, le système nerveux va sécréter des médiateurs chimiques comme la substance P, qui va stimuler les cellules du système immunitaire. À un certain niveau de réponse, l'irritation tissulaire et l'irritation sensorielle peuvent donc devenir indifférenciables l'une de l'autre. L'irritation sensorielle pouvant être un préalable à l'irritation tissulaire, Brüning *et al.* (2014) suggèrent de considérer les premiers effets observés de l'irritation sensorielle comme une NOAEC (Brüning *et al.*, 2014).

En 1986, Ruth avait déjà fixé un seuil d'irritation de 101,4 ppm (cité dans Smeets *et al.*, 2007). Smeets *et al.* (2007) ont évalué un seuil de latéralisation⁵ (irritation sensorielle nasale) en situation d'odeur en exposant 24 volontaires femmes 2 secondes par concentration espacées de 30 à 60 secondes selon une méthode olfactométrique statique ($1,23 \cdot 10^{-6}$ - 3 367,68 ppm) ou dynamique (0,1-615,38 ppm). Chaque volontaire était exposé 2 fois avec chaque méthode sur une période de 2 semaines. Aucune différence significative n'a été observée entre les méthodes : les seuils moyens de latéralisation étaient respectivement de 31,7 et 60,9 ppm pour les méthodes statique et dynamique ($p = 0,07$). D'autres études ont rapporté des seuils de latéralisation de 37-67 ppm (Wise *et al.*, 2005) ; > 314 ppm (moyenne) (Van Thriel *et al.*, 2006). Petrova *et al.* ont également identifié des seuils de latéralisation de 167 +/- 31 ppm chez des volontaires sains et 179 +/- 24 ppm chez des asthmatiques, sans qu'une différence significative soit mise en évidence entre les 2 populations (Petrova *et al.*, 2008). Plus récemment, Monsé *et al.* ont évalué un seuil de

⁵ La méthode de latéralisation permet de déterminer un seuil d'irritation. La substance et le témoin (air) sont présentés simultanément aux deux narines ou deux yeux d'un participant qui doit identifier quelle narine/œil a été stimulé. Cette méthode repose sur le principe selon lequel les substances volatiles ne peuvent être latéralisées qu'après une stimulation périphérique détectable du nerf trijumeau mais pas après stimulation du seul nerf olfactif. En effet, le système trigéminal innervant les yeux et la muqueuse nasale peut fournir des informations de localisation spatiale, alors que le système olfactif ne le peut pas. Ainsi, cette méthode permet d'identifier de manière fiable le côté stimulé lorsque le seuil de stimulation trigéminal est atteint ou dépassé (Smeets *et al.*, 2006 ; Petrova *et al.*, 2008).

latéralisation de 109-208 ppm chez 4 volontaires sains exposés à 500 ppm et de respectivement 181 et 172 ppm (moyenne géométrique) chez 8 volontaires sains exposés à différentes concentrations d'ammoniac à partir de 70 ppm dans des conditions humides ou sèches (Monsé *et al.*, 2010 et 2016).

Petrova *et al.* rapportent également des seuils de latéralisation au niveau oculaire (irritation sensorielle) respectivement de 133 +/- 25 et 127 +/- 22 ppm chez des asthmatiques (n = 15) et des volontaires sains (n = 25), sans qu'une différence significative ne soit mise en évidence entre les deux populations (Petrova *et al.*, 2008). Henderson et Haggard (1943) rapportent, sur la base d'observations chez l'Homme, un seuil d'irritation oculaire de 698 ppm, un seuil pour la toux de 1 720 ppm et un seuil d'irritation de la gorge de 408 ppm. Douglas et Coe (1987) ont déterminé un seuil lacrymal de 55 ppm suite à une exposition *via* des lunettes de protection de volontaires pendant 15 secondes et un seuil de bronchoconstriction de 85 ppm ($\nearrow$ 20% de la résistance des voies aériennes) suite à 10 respirations par un embout buccal (Douglas et Coe, 1987).

3.2.2.2 Données chez l'animal

Les lésions au niveau du tractus respiratoire observées suite à une exposition aiguë par inhalation sont semblables chez l'Homme et l'animal (OEHHA, 1999a, ATSDR, 2004). Des expositions aiguës (1 h – 1 semaine) à des concentrations inférieures ou égales à 1 000 ppm entraînent des irritations du tractus respiratoire tandis que des expositions (3 h - 2 semaines) à de fortes concentrations ($\geq$ 4 000 ppm) entraînent des lésions sévères au niveau des tractus respiratoires inférieur et supérieur et des capillaires alvéolaires.

Des études d'exposition aiguë ont mis en évidence des effets respiratoires chez des rats exposés par inhalation tels qu'une inhibition de la respiration chez des rates albinos exposées 3 h à 1 200 - 1 510 ppm (Rejniuk *et al.*, 2007 cité dans US EPA, 2016) et une diminution de la consommation en O₂ chez des rats exposés 3 h aux mêmes concentrations (Rejniuk *et al.*, 2007 et 2008 cités dans US EPA, 2016). Des rats ont montré une diminution de l'activité ciliaire trachéale pendant une exposition de 3 à 90 ppm pendant 10 min (Dalhamn, 1956 cité dans NRC, 2007 et US EPA, 2016), une diminution de l'activité motrice puis une cessation suite à une exposition pendant 6 h à 100 ppm et 300 ppm respectivement (Tepper *et al.*, 1985 cité dans NRC, 2007 et US EPA, 2016). Les souris exposées aux mêmes concentrations ont montré des réponses similaires à celles des rats (Tepper *et al.*, 1985 cité dans NRC, 2007 et US EPA, 2016). Cependant, aucun changement de comportement ou d'irritation des yeux ou des muqueuses respiratoires n'a été observé chez 8 rats exposés 24 h à des concentrations de 15 à 1 157 ppm d'ammoniac (Schaerdel *et al.*, 1983 cité dans ATSDR, 2004 ; NRC, 2007 et US EPA, 2016). Seules des lésions minimales de l'épithélium respiratoire des voies respiratoires supérieures ont été rapportées après une exposition continue à des concentrations allant jusqu'à 714 ppm pendant 3 à 7 jours (Schaerdel *et al.*, 1983 cité dans ATSDR, 2004 ; NRC, 2007 et US EPA, 2016). De même, des études subaiguës ont mis en évidence des effets respiratoires : irritation respiratoire chez des rats exposés 1 semaine à 500 ppm (Richard *et al.*, 1978 cité dans US EPA, 2016) et des hémorragies pulmonaires chez des rats exposés 6 h/jour pendant 5, 10 ou 15 jours à 25 ou 300 ppm (Mannimen *et al.*, 1988 cité dans US EPA, 2016). Chez des souris exposées à 303 ppm

pendant 30 min, une réduction de 50% de la fréquence respiratoire (RD_{50}) a été observée (Barrow *et al.*, 1978 cité dans NRC, 2007). L'exposition répétée des souris au RD_{50} pendant 6 h/jour pendant 3 ou 7 jours n'a pas provoqué de lésions au niveau de l'épithélium respiratoire (Buckley *et al.*, 1984 cité dans NRC, 2007 et US EPA, 2016), mais l'exposition à environ deux fois le RD_{50} (711 ppm) a entraîné une exfoliation légère à modérée, une érosion, une ulcération et une nécrose de l'épithélium respiratoire de la cavité nasale (Zissu, 1995 cité dans ATDSR, 2004 et NRC, 2007). Kapeghian *et al.* (1982) ont observé des irritations oculaires et nasales, une dyspnée et des convulsions tonico-cloniques chez des souris mâles albinos exposées 1 h à de fortes concentrations d'ammoniac (3 440, 4 220 ppm). À l'autopsie, les animaux présentaient une congestion vasculaire aiguë pulmonaire et des foyers d'hémorragies intra-alvéolaires (ATDSR, 2004 ; NRC, 2007 ; US EPA, 2016).

3.2.3 Sensibilisation

L'ammoniac n'est pas connu comme un sensibilisant respiratoire.

3.3 Toxicités subchronique et chronique

3.3.1 Effets respiratoires

3.3.1.1 Données chez l'Homme

L'appareil respiratoire est la principale cible de la toxicité de l'ammoniac inhalé chez l'Homme. Cinq études transversales en milieux industriels (Rahman *et al.*, 2007 ; Ali *et al.*, 2001 ; Ballal *et al.*, 1998 ; Bhat et Ramaswamy, 1993 ; Holness *et al.*, 1989) ont étudié l'association entre l'ammoniac inhalé et la prévalence de symptômes respiratoires ou de modifications de la fonction pulmonaire. Rahman *et al.* (2007) et Ballal *et al.* (1998) ont mis en évidence une augmentation de la prévalence des symptômes respiratoires (toux, sifflements, autres symptômes liés à l'asthme) à des concentrations supérieures ou égales à 18 mg.m^{-3} (25,5 ppm). La fréquence des symptômes respiratoires était significativement augmentée aux plus fortes concentrations cumulées ($> 50 \text{ mg.m}^{-3}\text{-années} = 70,7 \text{ ppm-années}$) (Ballal *et al.*, 1998). À plus faible exposition, aucune différence de la prévalence des symptômes respiratoires n'a été mise en évidence entre les travailleurs et les témoins dans les études de Rahman *et al.* (2007) (concentration moyenne : $4,9 \text{ mg.m}^{-3} = 6,9 \text{ ppm}$), Ali *et al.* (2001) ($0,2\text{-}7 \text{ mg.m}^{-3} = 0,3\text{-}9,9 \text{ ppm}$) et Holness *et al.* (1989) (groupe de forte exposition $> 8,8 \text{ mg.m}^{-3} = 12,4 \text{ ppm}$). Une diminution de la fonction pulmonaire a été observée dans les études de Rahman *et al.* (2007), Ali *et al.* (2001) et Bhat et Ramaswamy (1993) mais pas dans l'étude d'Holness *et al.* (1989).

Tableau 6 : Synthèse des études chez l'Homme en milieu industriel mettant en évidence des effets respiratoires (US EPA, 2016)

Référence et design de l'étude	Résultats					
Symptômes respiratoires						
Rahman et al. (2007) 24 travailleurs dans une usine d'engrais uréique (♂) + 25 témoins (personnel administratif). Durée moy. d'emploi : 16 ans <u>Exposition</u> : échantillon personnel Groupe faible exposition (usine NH ₃), moy. 6,9 ppm (4,9 mg.m ⁻³), 2,8-11,1 ppm (2-8 mg.m ⁻³) Groupe forte exposition (usine urée) : moy. 26,1 ppm (18,5 mg.m ⁻³), 13,4-43,5 ppm (9-31 mg.m ⁻³) <u>Observations</u> : symptômes respiratoires (échelle sur 5 pour la sévérité par rapport à la dernière session de travail) selon le questionnaire Optimal Symptom Score		% de travailleurs signalant des symptômes (p-value)				
			Témoins (n = 25)	Faiblement exposés (n =24) (p-value ¹)	Fortement exposés (n = 64)	
					(p-value ²)	p-value ³
		Toux	8	17 (0,42)	28 (0,05)	(0,41)
		Oppression thoracique	8	17 (0,42)	33 (0,02)	(0,19)
		Nez encombré	4	12 (0,35)	16 (0,17)	(1,0)
		Écoulement nasal	4	4 (1,0)	16 (0,17)	(0,28)
		Éternuement	8	0 (0,49)	22 (0,22)	(0,01)
		¹ p-value pour l'usine d'ammoniac par rapport aux témoins ; ² p-value pour l'usine d'urée par rapport aux témoins contrôle ; ³ p-value pour l'usine d'urée par rapport à l'usine d'ammoniac				
Ballal et al. (1998) Travailleurs de 2 usines d'engrais uréique (♂) ; 161 travailleurs exposés et 355 témoins non exposés ⁶ . Durée moyenne d'emploi : 51,8 mois (exposés) et 73,1 mois (témoins) <u>Exposition</u> : détecteurs - Usine A (forte exposition) : 2-130,4 ⁷ mg.m ⁻³ (médiane 66 mg.m ⁻³), moy. géométrique <18 mg.m ⁻³ , à l'exception de l'emballage de l'urée et magasins (moy. géométrique = 18,6 et 115 mg.m ⁻³ , respectivement) - Usine B (faible exposition) : 0,02-7 mg.m ⁻³ , moy. géométrique <18 mg.m ⁻³ Exposition cumulative calculée en fonction de l'exposition et de la durée, séparée en forte et faible exposition à partir de 50 mg.m ⁻³ -années <u>Observations</u> : symptômes respiratoires basés sur le questionnaire du British Medical Research Council		RR (IC _{95%}) par rapport aux témoins				
			Usine B* (0,02-7 mg.m ⁻³ ; n = 77)	Usine A* (2-27,1 mg.m ⁻³ ; n = 78)		
		Toux	Pas de cas	2,0 (0,38-10,4)		
		Expectorations	Pas de cas	2,0 (0,38-10,4)		
		Sifflements	0,97 (0,21-4,5)	3,4 (1,2-9,5)		
		Dyspnée	0,45 (0,11-1,9)	1,8 (0,81-4,2)		
		* Les analyses spécifiques à l'usine sont stratifiées par le statut de fumeur. Les résultats présentés ici sont pour les non-fumeurs. Des résultats similaires sont observés chez les fumeurs.				
		RR (IC _{95%}) par rapport aux groupes de faibles expositions (≤18 mg.m ⁻³ [n = 138] ou ≤50 mg.m ⁻³ -années [n = 130])				
	>18 mg.m ⁻³ (n = 17)	Cumulative >50 mg.m ⁻³ -année (n = 30)				
Toux	3,5 (1,8-6,6)	2,8 (1,6-5,0)				
Expectorations	3,8 (2,0-7,1)	3,0 (1,7-5,5)				
Sifflements	5,0 (2,4-10,6)	5,2 (2,9-9,5)				

⁶ Le processus de production d'engrais a impliqué la synthèse d'ammoniac à partir du gaz naturel, suivie par une réaction de l'ammoniac avec du dioxyde de carbone pour former du carbamide d'ammonium, qui a ensuite été converti en urée.

⁷ L'écart de concentrations d'ammoniac dans l'usine A est mieux représenté par 2-27,1 mg.m⁻³. Cette gamme exclut les employés du magasin (n = 6; 90-130,4 mg.m⁻³) qui doivent porter des vêtements de protection complets, ce qui minimise l'exposition potentielle. Nombre de travailleurs de l'usine A exclus des travailleurs magasin = 78.

	Dyspnée	4,6 (2,4-8,8)	2,6 (1,3-5,4)	
	Asthme	4,3 (2,1-9,0)	2,4 (1,1-5,4)	
	Bronchite chronique	2,3 (0,31-17)	5,3 (1,7-16)	
	↑ RR d'environ 1,3-1,5 (p <0,05) par unité en fonction de la concentration d'ammoniac pour la toux, l'expectoration, les sifflements et l'asthme, ajusté sur la durée du travail, l'exposition cumulée, le tabagisme et l'âge.			
Holness et al. (1989) Travailleurs d'une usine de soude ménagère (♂) ; 58 travailleurs exposés et 31 témoins (magasins et bureaux de l'usine) Exposition moyenne : 12,2 ans <u>Exposition</u> : échantillons personnels, moy 8,4h - Faible : < 6,25 ppm (<4,4 mg.m ⁻³) ; n = 34 - Moyenne : 6,25 à 12,5 ppm (4,4-8,8 mg.m ⁻³) ; n = 12 - Haut : > 12,5 ppm (> 8,8 mg.m ⁻³) ; n = 12 Travailleurs exposés (moy.) : 9,2 ppm (6,4 mg.m ⁻³) ; témoins (moy.) : 0,3 ppm <u>Observations</u> : symptômes respiratoires basés sur le questionnaire de l'American Thoracic Society	% de travailleurs reportant des symptômes			
		Témoins (n =31)	Exposés (n =58)	p-value
	Toux	10	16	0,53
	Expectorations	16	22	0,98
	Bronchite chronique	19	22	0,69
	Respiration sifflante	10	10	0,91
	Oppression thoracique	6	3	0,62
	Dyspnée	13	7	0,05
	Douleur poitrine	6	2	0,16
	Rhinites (plaintes nasales)	19	10	0,12
	Irritation gorge	3	7	0,53
	Pas ↑ risque observée dans les analyses stratifiées par groupe d'exposition			
Fonction pulmonaire				
Rahman et al. (2007) 24 travailleurs dans une usine d'engrais uréique (♂) + 25 témoins (personnel administratif). Durée moy. d'emploi : 16 ans <u>Exposition</u> : échantillon personnel Groupe faible exposition (usine NH ₃), moy. 6,9 ppm (4,9 mg.m ⁻³), 2,8-11,1 ppm (2-8 mg.m ⁻³) Groupe forte exposition (usine urée) : moy. 26,1 ppm (18,5 mg.m ⁻³), 13,4-43,5 ppm (9-31 mg.m ⁻³) <u>Observations</u> : fonction pulmonaire (spirométrie standard)		Pré-poste de travail	Post-poste de travail	p-value
	Usine ammoniac (groupe faible exposition, 4,9 mg.m ⁻³ , n = 24)			
	CVF	3,308	3,332	0,67
	VEMS	2,627	2,705	0,24
	DEP	8,081	8,313	0,22
	Usine urée (groupe forte exposition, 18,5 mg.m ⁻³ , n = 64)			
	CVF	3,362	3,258	0,01
	VEMS	2,701	2,2646	0,05
	DEP	7,805	7,810	0,97
Ali et al. (2001) Travailleurs d'usine d'engrais uréique (♂) - (étude complémentaire de "Usine A" étudiée dans Ballal et al., 1998) ; 73 travailleurs exposés et 348 témoins non exposés. Durée moy. d'emploi : NR <u>Exposition</u> : mesures sur 4h. Exposition cumulée calculée en fonction de l'exposition et de la durée ; séparée en forte et faible exposition à partir de 50 mg.m ⁻³ -années <u>Observations</u> : fonction pulmonaire (spirométrie standard, mesure du matin)		≤ 50 mg.m ⁻³ -année (n = 45)	> 50 mg.m ⁻³ -année (n = 28)	p-value
	CVF ₁ % prédite	100,7	93,4	0,006
	CVF% prédite	105,6	100,2	0,03
	VEMS/CVF	84,7	83,4	NS

Bhat et Ramaswamy (1993) Travailleurs des usines chimiques d'engrais ; 30 d'une usine de phosphate de diammonium (DAP), 30 d'une usine d'urée, 31 d'une usine d'ammoniac et 68 témoins (surface corporelle comparable, même statut socioéconomique et sexe que travailleurs exposés) <u>Exposition</u> : Mesures non reportées. Durée : ≤ 10 et > 10 ans <u>Observations</u> : fonction pulmonaire (spirométrie standard)	<table><tr><th></th><th>Témoins (n = 68)</th><th>Usine DAP (n = 30)</th><th>Usine urée (n = 30)</th><th>Usine NH₃ (n = 31)</th></tr><tr><td>CFV</td><td>3,4 ± 0,21</td><td>2,5 ± 0,06*</td><td>3,3 ± 0,11</td><td>3,2 ± 0,07</td></tr><tr><td>VEMS</td><td>2,8 ± 0,1</td><td>2,1 ± 0,08*</td><td>2,7 ± 0,1</td><td>2,5 ± 0,1*</td></tr><tr><td>DEP</td><td>383 ± 7,6</td><td>228 ± 18*</td><td>307 ± 19*</td><td>314 ± 20*</td></tr></table> * p < 0,05		Témoins (n = 68)	Usine DAP (n = 30)	Usine urée (n = 30)	Usine NH ₃ (n = 31)	CFV	3,4 ± 0,21	2,5 ± 0,06*	3,3 ± 0,11	3,2 ± 0,07	VEMS	2,8 ± 0,1	2,1 ± 0,08*	2,7 ± 0,1	2,5 ± 0,1*	DEP	383 ± 7,6	228 ± 18*	307 ± 19*	314 ± 20*																				
	Témoins (n = 68)	Usine DAP (n = 30)	Usine urée (n = 30)	Usine NH ₃ (n = 31)																																					
CFV	3,4 ± 0,21	2,5 ± 0,06*	3,3 ± 0,11	3,2 ± 0,07																																					
VEMS	2,8 ± 0,1	2,1 ± 0,08*	2,7 ± 0,1	2,5 ± 0,1*																																					
DEP	383 ± 7,6	228 ± 18*	307 ± 19*	314 ± 20*																																					
Holness et al. (1989) Travailleurs d'une usine de soude ménagère (♂) ; 58 travailleurs exposés et 31 témoins (magasins et bureaux de l'usine) Exposition moyenne : 12,2 ans <u>Exposition</u> : échantillons personnels, moy 8,4h - Faible : < 6,25 ppm (<4,4 mg.m ⁻³) ; n = 34 - Moyenne : 6,25 à 12,5 ppm (4,4-8,8 mg.m ⁻³) ; n = 12 - Haut : > 12,5 ppm (> 8,8 mg.m ⁻³) ; n = 12 Travailleurs exposés (moy.) : 9,2 ppm (6,4 mg.m ⁻³) ; témoins (moy.) : 0,3 ppm <u>Observations</u> : fonction pulmonaire (spirométrie standard, début et fin d'une session de travail, au moins 2 tests journaliers par travailleur)	<table><tr><th></th><th>Témoins (n =31)</th><th>Exposés (n = 58)</th><th>p-value*</th></tr><tr><td colspan="4">Fonction pulmonaire (valeurs prédites %)**</td></tr><tr><td>CVF</td><td>98,6 ± 11,3</td><td>96,8 ± 11,0</td><td>0,094</td></tr><tr><td>VEMS</td><td>95,1 ± 12,5</td><td>94,1 ± 12,9</td><td>0,35</td></tr><tr><td>VEMS/CVF</td><td>96,5 ± 6,1</td><td>97,1 ± 7,1</td><td>0,48</td></tr><tr><td colspan="4">Changement de la fonction pulmonaire par rapport au travail</td></tr><tr><td>CVF jour 1</td><td>-0,9</td><td>-0,8</td><td>0,99</td></tr><tr><td>CVF jour 2</td><td>+0,1</td><td>-0</td><td>0,84</td></tr><tr><td>VEMS jour 1</td><td>-0,2</td><td>-0,2</td><td>0,94</td></tr><tr><td>VEMS jour 2</td><td>+0,5</td><td>+0,7</td><td>0,86</td></tr></table> * p-value pour la différence entre les travailleurs exposés et témoins est calculée en utilisant des valeurs de base réelles et en corrigeant sur l'âge, la taille et le nombre de paquet-année fumées. ** % de la valeur prédite = valeur enregistrée × 100 / valeur prédite. Cette valeur est calculée sur les spiromètres automatisés en fonction du sexe, de l'ethnie, de l'âge et de la hauteur.		Témoins (n =31)	Exposés (n = 58)	p-value*	Fonction pulmonaire (valeurs prédites %)**				CVF	98,6 ± 11,3	96,8 ± 11,0	0,094	VEMS	95,1 ± 12,5	94,1 ± 12,9	0,35	VEMS/CVF	96,5 ± 6,1	97,1 ± 7,1	0,48	Changement de la fonction pulmonaire par rapport au travail				CVF jour 1	-0,9	-0,8	0,99	CVF jour 2	+0,1	-0	0,84	VEMS jour 1	-0,2	-0,2	0,94	VEMS jour 2	+0,5	+0,7	0,86
	Témoins (n =31)	Exposés (n = 58)	p-value*																																						
Fonction pulmonaire (valeurs prédites %)**																																									
CVF	98,6 ± 11,3	96,8 ± 11,0	0,094																																						
VEMS	95,1 ± 12,5	94,1 ± 12,9	0,35																																						
VEMS/CVF	96,5 ± 6,1	97,1 ± 7,1	0,48																																						
Changement de la fonction pulmonaire par rapport au travail																																									
CVF jour 1	-0,9	-0,8	0,99																																						
CVF jour 2	+0,1	-0	0,84																																						
VEMS jour 1	-0,2	-0,2	0,94																																						
VEMS jour 2	+0,5	+0,7	0,86																																						

NR : non reporté, NS : non significatif

L'utilisation de l'ammoniac en tant que produit d'entretien est associée à l'augmentation de l'asthme ou des symptômes de l'asthme chez des travailleurs dans le secteur de la santé (Arif et Delclos, 2012 ; Dumas *et al.*, 2012 cités dans US EPA, 2016) et d'autres secteurs d'activité (Vizcaya *et al.*, 2011 ; Zock *et al.*, 2007 ; Medina-Ramón *et al.*, 2005 ; Lemiere *et al.*, 2012 cités dans US EPA, 2016) (Tableau 7). Dans ces 6 études, les Odds-Ratios (OR) étaient généralement entre 1,5 et 2,0. Selon l'US EPA, les critères utilisés pour définir les symptômes d'asthme ou l'asthme étaient généralement bien définis et basés sur des méthodes validées.

Deux études ont réalisé des mesures de la fonction pulmonaire. Medina-Ramón *et al.* (2006) ont mis en évidence une association entre l'utilisation de l'ammoniac et une diminution du débit expiratoire de pointe (DEP) chez des agents d'entretien. Dans une étude sur les effets de l'utilisation du produit de nettoyage sur la santé respiratoire d'enfants, l'exposition à l'ammoniac était associée à une diminution de la fonction pulmonaire (VEMS) (Casas *et al.*, 2013 cité dans US EPA, 2016).

Tableau 7 : Synthèse des études chez l'Homme mettant en évidence des effets respiratoires de l'ammoniac en tant que produit d'entretien (US EPA, 2016)

Référence et design de l'étude	Résultats
Asthme ou symptômes d'asthme	
Dumas <i>et al.</i> (2012) Design hybride Travailleurs hospitaliers n = 179 ; 136♀), issus d'une étude cas-témoins sur une population, témoins travailleurs (n = 545 dont 333 ♀) <u>Exposition</u> : matrice emploi-exposition spécifique à l'asthme plus examen expert (aveugle), jamais exposé, 18 produits spécifiques, en fonction de tous les emplois occupés au moins 3 mois ; Prévalence de l'ammoniac : 23% chez les travailleuses hospitalières <u>Observations</u> : Asthme actuel : crise d'asthme, symptômes respiratoires ou traitement contre l'asthme au cours des 12 derniers mois (sur la base d'un questionnaire standardisé)	OR (IC _{95%}), asthme actuel ♀ : 3,05 (1,19 ; 7,82) ♂ : pas d'association avec des produits spécifiques (prévalence faible) Ajusté sur l'âge et le tabagisme, et la prise en compte de la dépendance familiale (en raison de l'échantillonnage des cas et des proches)
Arif et Delclos (2012) Enquête sur une population de 3 650 travailleurs de santé (médecins, infirmières, inhalothérapeutes, ergothérapeutes) (total n = 5 600, taux de réponse de 66%) <u>Exposition</u> : questionnaire - fréquence d'utilisation des produits pour le travail le plus longtemps occupé ; jamais contact avec 28 produits ; Prévalence de l'ammoniac 23% <u>Observations</u> : questionnaire • Symptômes d'asthme professionnel : respiration sifflante/sifflement au travail ou essoufflement à des travaux qui s'améliorent en dehors du travail ou s'empire au travail • Asthme exacerbé au niveau professionnel : déclaré avant le début du travail • Asthme professionnel : déclaré après le début du travail	[n cas] OR (IC _{95%}) Symptômes associés à l'asthme liés au travail [n = 132] 2,45 (1,28 ; 4,69) Asthme exacerbé par le travail [n = 41] 1,58 (0,56, 4,43) Asthme professionnel [n = 33] 1,86 (0,49, 7,13) Ajusté sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique, l'indice de masse corporelle, l'ancienneté, l'atopie et le tabagisme
Lemiere <i>et al.</i> (2012) Étude cas-témoins. Travailleurs observés dans deux centres de soins tertiaires spécialisés dans l'asthme professionnel. • Cas : Asthme en fonction de la limitation réversible du débit d'air ou des tests d'hyperréactivité des voies respiratoires • Témoins : asthme non lié au travail observé dans les mêmes cliniques, avec des symptômes non aggravés au travail (n = 33). <u>Exposition</u> : entretien ciblant sur le dernier emploi ou l'emploi actuel, combiné avec un examen par un expert (aveugle). Prévalence de l'ammoniac 19/153 = 12% <u>Observations</u> : Diagnostic réalisé sur la base de tests de référence • Asthme professionnel si test spécifique de provocation par inhalation positif • Asthme exacerbé par le travail si test spécifique de provocation par inhalation négatif mais les symptômes aggravés au travail	[n cas] OR (IC _{95%}) Exacerbation professionnelle [n = 53] 8,4 (1,1 ; 371,7) Asthme professionnel [n = 67] 3,7 (0,4 ; 173,4) Facteur de confusion : âge, tabagisme, exposition professionnelle à la chaleur, au froid, à l'humidité, à la sécheresse et aux contraintes physiques. [Les IC étendus reflètent le peu de personnes classées comme exposées à l'ammoniac (1/33) dans le groupe référent.]
Vizcaya <i>et al.</i> (2011)	Parmi les agents d'entretien actuels :

Étude exposés-non exposés chez 917 travailleurs du service de nettoyage de 37 entreprises (taux de réponse de 19% au questionnaire distribué par les employeurs) (761 agents de nettoyage en poste, 86 anciens agents de nettoyage et 70 n'ayant jamais été agent de nettoyage) • Groupe exposés : agents de nettoyage en poste • Groupe non exposés : n'ayant jamais été agent de nettoyage et agents de nettoyage en poste n'ayant utilisé aucun des produits de nettoyage spécifique au cours de la dernière année (n = 161) <u>Exposition</u> : questionnaire, utilisation de tâches de nettoyage et 12 produits ; Prévalence de l'ammoniac 66% <u>Observation</u> : questionnaire • Asthme actuel : au cours des 12 derniers mois, réveillé par une crise d'essoufflement, crise d'asthme ou prise actuelle de médicaments contre l'asthme (inhalateurs, aérosols ou comprimés) • Score de l'asthme : Somme des réponses positives à 5 symptômes au cours des 12 derniers mois (respiration sifflante avec essoufflement, réveil avec oppression thoracique, crise d'essoufflement au repos, crise d'essoufflement après l'exercice, réveillé par crise d'essoufflement de courte durée)		OR (IC _{95%})	n
	Asthme actuel	1,4 (0,6 ; 3,2)	81
	Respiration sifflante sans rhume	2,1 (0,9 ; 4,7)	83
	Toux chronique	1,6 (0,8 ; 3,3)	95
	Score d'asthme	1,6 (1,0 ; 2,5)	moy. 0,59 SD 1,12
Ajusté sur l'âge, le pays de naissance (espagnol vs non espagnol), le sexe et le tabagisme			

Zock et al. (2007) Étude longitudinale, n = 3,503, suivi de 9 ans de l'Enquête sur la santé respiratoire de la Communauté européenne, échantillon de population, âge 20 à 44 ans. Exclut 764 personnes souffrant d'asthme ; limité aux personnes déclarant faire le ménage chez eux. <u>Exposition</u> : Entretien dirigé sur le suivi ; fréquence d'utilisation de 15 produits <u>Observations</u> : entretien dirigé au suivi • Asthme apparu depuis le début de l'enquête (crise d'asthme ou essoufflement nocturne au cours des 12 derniers mois ou utilisation de médicaments contre l'asthme) • Respiration sifflante (sifflements dans la poitrine au cours des 12 derniers mois sans rhume) • Asthme diagnostiqué par un médecin (cf. définition de l'asthme ci-dessus + confirmation par un médecin et information sur l'âge ou la date de la première crise)		OR (IC _{95%})	n
	Asthme	1,4 (0,87 ; 2,23)	199
	Respiration sifflante	1,3 (0,81 ; 2,13)	226
	Asthme diagnostiqué	0,92 (0,33 ; 2,59)	71
Ajusté sur le sexe, l'âge, le tabagisme, l'emploi dans un ménage pendant l'étude et le centre d'étude. Hétérogénéité par centre a également été évaluée. Les corrélations entre les produits étaient généralement faibles (Spearman rho <0,3).			

Medina-Ramón et al. (2005) Cas-témoins niché Agents d'entretien • Cas d'asthme et/ou de bronchite aux 2 évaluations : n = 40 ; taux de participation de 74%) • Témoins : n = 155, 69% taux de participation, pas d'antécédents de symptômes respiratoires au cours de l'année précédente et pas d'asthme à l'une ou l'autre évaluation. <u>Exposition</u> : entretien dirigé ; fréquence d'utilisation de 22 produits ; Prévalence de l'ammoniac 16% non diluée, 56% diluée <u>Observations</u> : • Asthme : crise d'asthme ou réveil par crise ou essoufflement au cours des 12 derniers mois • Bronchite chronique : toux régulière ou expectorations régulières pendant au moins 3 mois chaque année	OR (IC _{95%}) (non ajusté), ≥12 comparé avec < 12 fois/an		
		OR (IC _{95%})	
	Non dilué	3,1 (1,2 ; 8,0)	
Dilué	0,8 (0,4 ; 1,7)		

Fraction exhalée d'oxyde d'azote (FeNO) et fonction pulmonaire																							
Casas et al. (2013)	Associations ajustées* entre FeNO, CVF et VEMS** et l'utilisation hebdomadaire de NH ₃ (n = 46 ; 16%)																						
Étude de cohorte transversale de naissances, 432 nourrissons inscrits ; 295 individus recrutés ayant complété la visite de suivi des 10 ans et le questionnaire sur les produits de nettoyage et ayant effectué le FeNO et/ou le test de la fonction pulmonaire ; 35% de la population recrutée exclus par manque d'information sur l'utilisation des produits de nettoyage et/ou sur les tests respiratoires ; seules 46 personnes ont déclaré utiliser de l'ammoniac	<table border="1"> <thead> <tr> <th>FeNO*** (ppb)</th><th>CVF (mL)</th><th>VEMS (mL)</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Ratio moy géométrique (IC_{95%})</td><td>β (IC_{95%})</td><td>β (IC_{95%})</td></tr> <tr> <td>0,86 (0,66 ; 1,12)</td><td>3 (-127 ; 133)</td><td>-28 (-131 ; 76)</td></tr> </tbody> </table>		FeNO*** (ppb)	CVF (mL)	VEMS (mL)	Ratio moy géométrique (IC _{95%})	β (IC _{95%})	β (IC _{95%})	0,86 (0,66 ; 1,12)	3 (-127 ; 133)	-28 (-131 ; 76)												
FeNO*** (ppb)	CVF (mL)	VEMS (mL)																					
Ratio moy géométrique (IC _{95%})	β (IC _{95%})	β (IC _{95%})																					
0,86 (0,66 ; 1,12)	3 (-127 ; 133)	-28 (-131 ; 76)																					
<u>Exposition</u> : questionnaire dirigé par l'intervieweur ; fréquence d'utilisation de 10 différents produits de nettoyage (agents de blanchiment, ammoniac, vernis ou cires, acides, solvants, sprays pour meubles, produits nettoyants pour vitres, produits de dégraissage, vaporisateurs et pains désodorisants) ; score d'exposition développé en fonction de la fréquence d'utilisation et du nombre de produits utilisés	* Ajusté sur le sexe, l'âge, le traitement de l'asthme, la saison de mesure respiratoire, l'éducation maternelle et le tabagisme parental. CVF et VEMS ont été ajustés en plus sur la taille et le poids.																						
<u>Observations</u> : questionnaires sur l'asthme, le traitement et les allergies faits par la mère de la naissance à l'âge de 10 ans ; à 10 à 13 ans, FeNO et mesures de la fonction pulmonaire	** Augmentation du score par changement du FeNO, CVF et VEMS par intervalle interquartile (intervalle interquartile = 6,5 j d'utilisation du produit par semaine).																						
Medina-Ramón et al. (2006)	*** FeNO utilisé pour caractériser l'asthme ou d'autres pathologies associées à l'inflammation des voies respiratoires.																						
Étude de panel, échantillon sélectionné parmi les participants à l'étude cas-témoins nichés de Medina-Ramón et al. (2005). Symptômes d'asthme ou de bronchite chronique dans l'enquête de 2000-2001 ; n = 51 sur 80 (64%) ; 8 exclus (erreurs possibles d'enregistrement, valeurs aberrantes, effets d'apprentissage)	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th><th>Dilué et non dilué</th><th>Dilué uniquement</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td><td colspan="2">OR (IC_{95%})</td></tr> <tr> <td>Symptômes du tractus respiratoire supérieur</td><td>1,8 (0,7 ; 4,9)</td><td>1,3 (0,3 ; 5,0)</td></tr> <tr> <td>Symptômes du tractus respiratoire inférieur</td><td>1,6 (0,6 ; 4,4)</td><td>3,0 (1,0 ; 9,1)</td></tr> <tr> <td></td><td colspan="2">β (IC_{95%})</td></tr> <tr> <td>DEP nuit</td><td>-9,4 (-17 ; -2,3)</td><td>-10,3 (-18 ; -2,7)</td></tr> <tr> <td>DEP, matin suivant</td><td>-1,2 (-8,5 ; 6,2)</td><td>-2,9 (-11 ; 6,2)</td></tr> </tbody> </table>			Dilué et non dilué	Dilué uniquement		OR (IC _{95%})		Symptômes du tractus respiratoire supérieur	1,8 (0,7 ; 4,9)	1,3 (0,3 ; 5,0)	Symptômes du tractus respiratoire inférieur	1,6 (0,6 ; 4,4)	3,0 (1,0 ; 9,1)		β (IC _{95%})		DEP nuit	-9,4 (-17 ; -2,3)	-10,3 (-18 ; -2,7)	DEP, matin suivant	-1,2 (-8,5 ; 6,2)	-2,9 (-11 ; 6,2)
	Dilué et non dilué	Dilué uniquement																					
	OR (IC _{95%})																						
Symptômes du tractus respiratoire supérieur	1,8 (0,7 ; 4,9)	1,3 (0,3 ; 5,0)																					
Symptômes du tractus respiratoire inférieur	1,6 (0,6 ; 4,4)	3,0 (1,0 ; 9,1)																					
	β (IC _{95%})																						
DEP nuit	-9,4 (-17 ; -2,3)	-10,3 (-18 ; -2,7)																					
DEP, matin suivant	-1,2 (-8,5 ; 6,2)	-2,9 (-11 ; 6,2)																					
<u>Exposition</u> : Journal quotidien d'utilisation des produits <u>Observations</u> : symptômes respiratoires notés quotidiennement dans un journal pendant 2 semaines (7 symptômes, échelle 1-5) ; score additionné pour les symptômes du tractus respiratoire supérieure (nez bouché, irritation de la gorge, yeux larmoyants) et pour le tractus respiratoire inférieur (oppression thoracique, respiration sifflante, essoufflement et toux) ; DEP mesuré avec un débitmètre de pointe mini-Wright (avec formation et instructions écrites) le matin, au déjeuner, et la nuit (3 mesures chacune, la plus élevée enregistrée)	Ajusté pour les infections respiratoires, l'utilisation de médicaments et l'âge. Facteurs de confusion : nombre quotidien de cigarettes fumées, années d'emploi et/ou heures de travail hebdomadaires comme agent d'entretien																						

La majorité des études réalisées dans un contexte agricole se concentrant sur les symptômes respiratoires et irritatifs de l'ammoniac (toux, expectoration, respiration sifflante, oppression thoracique, irritation oculaire, nasale et de la gorge) n'ont pas mis en évidence de lien avec l'exposition à l'ammoniac (Loftus et al., 2015 ; Melbostad et Eduard, 2001 ; Preller et al., 1995 ; Zejda et al., 1994 cités dans US EPA, 2016). En revanche, des effets sur la fonction pulmonaire (diminution du VEMS et de la CVF) associés à l'exposition à l'ammoniac en milieu agricole ont été observés dans 6 des 8 études ayant réalisé des mesures spirométriques (Loftus et al., 2015 ; Monsó et al., 2004 ; Donham et al., 2000 ; Reynolds et al., 1996 ; Donham et al., 1995 ; Preller et

al., 1995 ; Zejda *et al.*, 1994; Heederik *et al.*, 1990 cités dans US EPA, 2016). Cependant, plusieurs de ces études réalisées dans un contexte agricole présentaient des co-expositions à d'autres agents (endotoxines, poussières) (Donham *et al.*, 2000 ; Reynolds *et al.*, 1996 ; Donham *et al.*, 1995 ; Preller *et al.*, 1995 ; Heederik *et al.*, 1990 cités dans US EPA, 2016).

Enfin, une étude d'exposition contrôlée chez 6 volontaires sains exposés à l'ammoniac de 2 à 6 h/jour, 5 jours/semaine pendant 6 semaines a rapporté des irritations (oculaire, nasale, gorge), la majorité apparaissant la première semaine d'exposition à 50 ppm, mais pas d'effet significatif sur les mesures de la fonction respiratoire (CVF, VEMS) (Ferguson *et al.*, 1977).

3.3.1.2 Données chez l'animal

Les études animales subaiguës et subchroniques montrent des modifications histopathologiques des tissus respiratoires chez plusieurs espèces animales, telles que des inflammations pulmonaires chez les cobayes et les rats, des pneumonies focales ou interstitielles chez les singes, les chiens, les lapins et les cobayes, des congestions pulmonaires chez la souris, des épaissements de l'épithélium nasal chez les rats et les porcs et des inflammations ou des lésions nasales chez le rat et la souris (Coon *et al.*, 1970 ; Doig et Willoughby, 1971 ; Broderson *et al.*, 1976 ; Drummond *et al.*, 1980 ; Gaafar *et al.*, 1992 ; Anderson *et al.*, 1964 cités dans ATSDR, 2004 et US EPA, 2016). Ces études confirment l'association entre l'ammoniac inhalé et les effets respiratoires.

Tableau 8 : Synthèse des études répétées chez l'animal (US EPA, 2016)

Référence et design de l'étude	Résultats
Effets pulmonaires	
Coon <i>et al.</i> (1970) Rats Sprague-Dawley et Long-Evans (♂, ♀), n = 15/groupe Lapin albinos new Zealand (♂), n = 3/groupe Cobayes de Princeton (♂, ♀), n = 15/groupe Singe écureuil (<i>Saimiri sciureus</i>) (♂), n = 3/groupe Chien Beagle (♂), n = 2/groupe 0, 155 ou 770 mg.m ⁻³ pendant 8 h/j, 5 j/semaine pendant 6 semaines	Autopsies normales. Pneumonie focale chez 1/3 singes à 155 mg.m ⁻³ . Inflammation pulmonaire non spécifique chez cobayes et rats uniquement à 770 mg.m ⁻³ ^a
Coon <i>et al.</i> (1970) Lapin albinos new Zealand (♂), n = 3/groupe Cobayes de Princeton (♂, ♀), n = 15/groupe Singe écureuil (<i>Saimiri sciureus</i>) (♂), n = 3/groupe Chien Beagle (♂), n = 2/groupe 0 ou 40 mg.m ⁻³ pendant 114 jours ou 470 mg.m ⁻³ pendant 90 jours	470 mg.m ⁻³ : pneumonie interstitielle focale ou diffuse chez tous les animaux. Calcification de l'épithélium bronchique observée chez plusieurs animaux. Lésion pulmonaire hémorragique chez 1/2 chiens ; Congestion pulmonaire modérée chez 2/3 lapins ^a (Cette exposition a été mortelle à ~ 25% des cobayes)
Coon <i>et al.</i> (1970) Rats Sprague-Dawley et Long-Evans (♂, ♀), n = 15-51/groupe 0 ou 40 mg.m ⁻³ pendant 114 jours, 127, 262 ou 470 mg.m ⁻³ pendant 90 jours ou 455 mg.m ⁻³ pendant 65 jours	470 mg.m ⁻³ : pneumonie interstitielle focale ou diffuse chez tous les animaux et calcification de l'épithélium bronchique observée chez plusieurs animaux, exposition létale pour la plupart des rats ^a
Anderson <i>et al.</i> (1964) Souris albinos Swiss (♂, ♀), n = 4/intervalle d'exposition 0 ou 20 ppm (0 ou 14 mg.m ⁻³) pendant 7, 14, 21, 28 ou 42 jours	Congestion pulmonaire, œdème et hémorragies à 14 mg.m ⁻³ après 42 jours ^a

Anderson et al. (1964) Cobayes (souche non spécifiée) (♂, ♀), n = 2/ intervalle d'exposition à 20 ppm, 6/intervalle d'exposition à 50 ppm 0 ou 20 ppm (14 mg.m ⁻³) pendant 7, 14, 21, 28 ou 42 jours ou 50 ppm (35 mg.m ⁻³) pendant 42 jours	Congestion pulmonaire, œdème et hémorragies à 14 et 35 mg.m ⁻³ après 42 jours ^a
Done et al. (2005) Porc (plusieurs races) (sexe non précisé), n = 24/groupe 0, 0,6, 10, 18,8 ou 37 ppm (0, 0,4, 7, 13,3 ou 26 mg.m ⁻³) et 1,2, 2,7, 5,1 ou 9,9 mg.m ⁻³ de poussière inhalable pendant 5 semaines (Exposition à l'ammoniac et aux poussières inhalables à des concentrations généralement constatées dans les fermes porcines)	Pas ↑ de l'incidence de pathologies respiratoires ou autres
Curtis et al. (1975) Porc (croisé) (sexe non précisé), n = 4-8/groupe 0, 50 ou 75 ppm (0, 35 ou 53 mg.m ⁻³) pendant pour 109 jours	Cornets nasaux, trachée et poumons normaux chez tous les cochons
Effets sur le tractus respiratoire supérieur	
Coon et al. (1970) Rats Sprague-Dawley et Long-Evans (♂, ♀), n = 15/groupe Lapin albinos new Zealand (♂), n = 3/groupe Cobayes dérivés de Princeton (♂, ♀), n = 15/groupe Singe écureuil (<i>Saimiri sciureus</i>) (♂), n = 3/groupe Chien Beagle (♂), n = 2/groupe 0, 155 ou 770 mg.m ⁻³ pendant 8 h/j, 5 j/semaine pendant 6 semaines	Dyspnée chez les lapins et les chiens exposés à 770 mg.m ⁻³ pendant la semaine 1 seulement. Pas d'indication d'irritation après la semaine 1. Tissus nasaux non examinés pour des modifications grossières ou histopathologiques.
Broderick et al. (1976) Rats Sherman, n = 5/sexe/groupe 10 ou 150 ppm (7 ou 106 mg.m ⁻³) pendant 75 jours	↑ épaisseur de l'épithélium nasal (3-4 fois) et des lésions nasales à 106 mg.m ⁻³ ^a
Broderick et al. (1976) Rats F344, n = 6/sexe/groupe 0 ou 250 ppm (0 ou 177 mg.m ⁻³) dans une chambre d'inhalation pendant 35 jours	↑ épaisseur de l'épithélium nasal (3-4 fois) et des lésions nasales à 177 mg.m ⁻³ ^a
Coon et al. (1970) Rats Sprague-Dawley et Long-Evans (♂, ♀), n = 15-51/groupe 0 ou 40 mg.m ⁻³ pendant 114 jours, 127, 262 ou 470 mg.m ⁻³ pendant 90 jours ou 455 mg.m ⁻³ pendant 65 jours	Écoulement nasal à 262 mg.m ⁻³ (25% des rats). Dyspnée et irritation/écoulement nasal chez tous les animaux à 455 et 470 mg.m ⁻³ (= exposition létale chez la majorité des rats) ^a
Gaafar et al. (1992) Souris blanche albinos (♂), n = 50 Vapeur d'ammonium de 0 ou 12% d'ammoniac pendant 15 min/j, 6 jours/semaine, 8 semaines	Changements histologiques au niveau de la muqueuse nasale ^a
Doig et Willoughby (1971) Porc Yorkshire-Landrace (sexe non précisé), n = 6/groupe 0 ou 100 ppm (0 ou 71 mg.m ⁻³) pendant 6 semaines	↑ épaisseur de l'épithélium nasal et trachéal (↑ de 50- 100%) ^a
Stombaugh et al. (1969) Porc Duroc (♂, ♀), n = 9/groupe 12, 61, 103, 145 ppm (8, 43, 73 ou 103 mg.m ⁻³) pendant 5 semaines	Sécrétions nasales, lacrymales et buccales excessives et ↑ fréquence de toux à 73 et 103 mg.m ⁻³ ^a

Coon et al. (1970) Chien Beagle (♂), n = 2/groupe 0 ou 40 mg.m ⁻³ pour 114 jours ou 470 mg.m ⁻³ pour 90 jours	Écoulement nasal à 470 mg.m ⁻³ ^a
--	--

^a incidence non rapportée

3.3.2 Effets systémiques

- Effets immunologiques

Seules 2 études épidémiologiques ont évalué les effets immunologiques chez des éleveurs exposés à l'ammoniac par inhalation suggérant des effets immunostimulateurs (Crook *et al.*, 1991 ; Cormier *et al.*, 2000 cités dans US EPA, 2016). Cependant, dans ces études, il existait des co-expositions à d'autres agents respirables stimulant la réponse immunitaire (endotoxines, bactéries, champignons, moisissures).

Chez l'animal, des études ont montré que l'exposition chronique à l'ammoniac augmente la croissance bactérienne. Ainsi, l'exposition de rats à ≥ 25 ppm (35 mg.m⁻³) d'ammoniac pendant 4 à 6 semaines après l'inoculation intranasale de *Mycoplasma pulmonis* a augmenté l'incidence des lésions pulmonaires caractéristiques de la mycoplasmosse respiratoire murine (absence de relation dose-réponse) (Broderon *et al.*, 1976). Schoeb *et al.* (1982) ont mis en évidence une augmentation significative de la croissance bactérienne *M. pulmonis* au niveau de la trachée, les voies nasales, les poumons et le larynx chez des rats F344 exposés en continu à 71 mg.m⁻³ pendant 35 jours (7 jours avant l'inoculation + 28 jours après) (Schoeb *et al.*, 1982 cité dans US EPA, 2016). Une augmentation significative de la mortalité a été mise en évidence chez des souris OF1 exposées à 354 mg.m⁻³ d'ammoniac 7 jours avant l'inoculation avec une DL₅₀ de *Pasteurella multocida* (Richard *et al.*, 1978 cité dans US EPA, 2016). Les auteurs ont suggéré que l'action irritante de l'ammoniac a détruit la muqueuse trachéobronchique et a causé des lésions inflammatoires, augmentant ainsi la sensibilité à l'infection. Les études chez le porc supportent les résultats observés dans les études chez les rongeurs selon lesquels l'exposition à l'ammoniac augmente la colonisation des agents pathogènes respiratoires (Andreasen *et al.*, 2000 ; Hamilton *et al.*, 1998 et 1999 cités dans US EPA, 2016). Ainsi, les données disponibles suggèrent un lien entre l'exposition par inhalation à l'ammoniac et une immunotoxicité. Cependant, il n'est pas possible de conclure si l'augmentation de la colonisation bactérienne est le résultat d'une immunosuppression associée avec l'exposition à l'ammoniac ou est secondaire à des lésions de l'épithélium des voies respiratoires (US EPA, 2016).

Des cobayes Hartley vaccinés avec *Mycobacterium bovis* le bacille de Calmette-Guérin (BCG) et exposés à 90 ppm (64 mg.m⁻³) d'ammoniac pendant 3 semaines ont montré une diminution significative de la réponse immunitaire à médiation cellulaire suite à une provocation intradermique avec un dérivé de la tuberculine. Une diminution de la prolifération de lymphocytes T a été mise en évidence chez des cobayes traités selon le même protocole et stimulés par la phytohémagglutinine ou la concanavaline A (Targowski *et al.*, 1984 cité dans ATSDR, 2004 et US EPA, 2016).

Une réduction de la concentration de γ -globuline a été observée chez des porcs exposés à 100 ppm (70,7 mg.m⁻³) d'ammoniac pendant 31 à 45 jours (Neumann *et al.*, 1987 cité dans ATSDR, 2004).

- **Autres effets**

Plusieurs études ont mis en évidence des effets au niveau de différents organes suite à une exposition répétée à l'ammoniac (US EPA, 2016) :

- foie avec des altérations histopathologiques chez des rats, des cobayes, des lapins, des chiens et des singes exposés en subchronique à 470 mg.m⁻³ (concentration mortelle pour environ 25% des cobayes et la majorité des rats exposés) (Coon *et al.*, 1970 cité dans US EPA, 2016) , une congestion du foie chez des cobayes exposés 42 jours à 50 ppm (35 mg.m⁻³) et 18 semaines à 170 ppm (120 mg.m⁻³) (Anderson *et al.*, 1964 ; Weatherby, 1952 cités dans US EPA, 2016) ;
- reins et rate : lésions rénales (calcification et prolifération de l'épithélium tubulaire) chez des rats, des lapins, des cobayes, des singes et des chiens exposés à 470 mg.m⁻³ (Coon *et al.*, 1970 cité dans US EPA, 2016), une congestion des reins et de la rate chez 4 cobayes exposés à 170 ppm (120 mg.m⁻³) pendant 18 semaines (Weatherby, 1952 cité dans US EPA, 2016), des hypertrophies de la rate chez des cobayes exposés à 50 ppm (35 mg.m⁻³) pendant 6 semaines (Anderson *et al.*, 1964 cité dans US EPA, 2016) ;
- Cœur avec une fibrose myocardique chez des singes, des chiens, des lapins, des cobayes et des rats exposés en subchronique à 70 mg.m⁻³ (Coon *et al.*, 1970 cité dans US EPA, 2016).

3.4 Effets sur la reproduction et le développement

Aucune étude n'a été identifiée concernant les effets de l'ammoniac sur la reproduction et le développement chez l'Homme suite à une exposition par inhalation.

Dans le cadre d'une étude sur la reproduction et le développement, aucune différence statistiquement significative pour les effets sur la reproduction et le développement n'a été observée chez des truies exposées à 0, 7 ou 35 ppm d'ammoniac (0, 5 ou 25 mg.m⁻³) pendant 6 semaines (Diekman *et al.*, 1993 cité dans ATSDR, 20004 et US EPA, 2016). Aucun témoin non exposé n'a été inclus dans cette étude.

3.5 Génotoxicité

Les résultats des tests de génotoxicité *in vitro* et *in vivo* sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 9 : Synthèse des données de génotoxicité de l'ammoniac (ATSDR, 2004)

Espèces	Tests	Forme	Système d'activation	Résultats		Référence
				Avec activation	Sans activation	
In vitro						
S. typhimurium (TA98, TA100, TA1535, TA1537 et TA1538)	Test d'Ames	NH3 anhydre	Fraction S9 de foie de rat Sprague-Dawley mâle induite par Aroclor 1254	-	-	Shimizu, 1985
E. coli WP2 uvrA	Test d'Ames	NH3 anhydre	Fraction S9 de foie de rat Sprague-Dawley mâle induite par Aroclor 1254	-	-	Shimizu, 1985
E. Coli	Mutation reverse	NH3		NT	+ (niveaux toxiques)	Demerec et al., 1951
Fibroblastes de poussin	Aberrations chromosomiques	NH4Cl- NH4OH tamponné		NT	+	Rosenfeld, 1932
Fibroblastes de souris	Réduction de la division cellulaire	NH3+ NH4Cl		NT	+	Vissek et al., 1972
Fibroblastes de souris (3T3)	Réduction de la division cellulaire			NT	+	Capuco, 1977
Fibroblastes de souris	Inhibition de la réparation de l'ADN	NH4Cl		NT	+	Capuco, 1977
In vivo						
Drosophila melanogaster	Létalité	NH3		+	NT	Lobasov et Smirnov, 1934
Drosophila melanogaster	Mutations létales récessives liées au sexe	NH3		- (doute, probablement négatif)	NT	Auerbach et Robson, 1947
Drosophila melanogaster	Létalité dominante	NH3		-	NT	Auerbach et Robson, 1947
Cellules de souris de la muqueuse iléale et colique	Diminution du taux de synthèse de l'ADN	NH4Cl		NT	+	Zimber et Vissek, 1972a

– = résultat négatif ; + = résultat positif ; (+) = résultat faiblement positif ; NT = non testé

Une seule étude a examiné l'effet génotoxique de l'ammoniac chez l'Homme (Yadav et Kaushik, 1997 cité dans ATSDR, 2004). L'analyse des échantillons sanguins de 22 travailleurs exposés à l'ammoniac dans une usine d'engrais et de 42 ouvriers témoins non exposés à l'ammoniac a

montré une augmentation de la fréquence des aberrations chromosomiques et des échanges de chromatides sœurs et de l'indice mitotique. La fréquence des aberrations chromosomiques et des échanges de chromatides sœurs était augmentée avec la durée de l'exposition. Aucun détail n'a été donné quant à la façon dont le groupe exposé et le groupe témoin ont été appariés pour l'âge, les habitudes tabagiques, etc. Compte tenu de ces limites et de la petite taille de cette étude, les faibles niveaux d'ammoniac ambiant et l'exposition probable à d'autres produits chimiques ne permettent pas de tirer des conclusions quant à la mutagénicité de l'ammoniac.

Selon l'ATSDR, les données disponibles indiquent que l'ammoniac et l'ion ammonium peuvent avoir des propriétés clastogènes et mutagènes.

3.6 Cancérogénicité

Le potentiel cancérogène de l'ammoniac par inhalation n'a pas été évalué chez l'Homme et l'animal.

3.7 Populations sensibles

L'appareil respiratoire étant l'organe cible de l'ammoniac, on pourrait s'attendre à ce que les individus présentant des pathologies respiratoires (ex. asthme) soient plus sensibles aux effets de l'ammoniac. Un nombre limité d'études apporte des informations contradictoires sur la sensibilité des asthmatiques à l'ammoniac (MacLean *et al.*, 1979 ; Petrova *et al.*, 2008 ; Sigurdarson *et al.*, 2004 ; Loftus *et al.*, 2015 ; Preller *et al.*, 1995). Loftus *et al.* (2015) ne rapportent pas d'augmentation des symptômes d'asthme et d'utilisation de médicaments spécifiques chez des enfants asthmatiques vivant près d'exploitations d'élevage. Néanmoins, l'exposition à l'ammoniac était associée avec une diminution du VEMS (-3,8%, IC_{95%} = 0,2-7,3) (US EPA, 2016). Les études d'exposition humaine contrôlée qui ont examiné à la fois des volontaires adultes sains et des volontaires présentant une pathologie respiratoire (asthme, rhinite allergique saisonnière, individus atopiques) (MacLean *et al.*, 1979 ; Petrova *et al.*, 2008 ; Sigurdarson *et al.*, 2004 ; Pacharra *et al.*, 2017) n'ont pas montré une plus grande sensibilité respiratoire chez les individus atopiques par rapport aux volontaires sains après une exposition aiguë à l'ammoniac. Shim et Williams (1986) ont interrogé 60 patients ayant des antécédents d'asthme aggravé par certaines odeurs. Près de 80% de ces patients affirmaient que leur asthme était exacerbé après exposition à des nettoyants ménagers contenant de l'ammoniac (OEHHA, 1999). Dans les conditions d'exposition à plus long terme, chez des éleveurs, une étude a observé une association entre l'exposition à l'ammoniac et la diminution de la fonction pulmonaire chez les travailleurs souffrant de symptômes respiratoires chroniques, mais pas avec les travailleurs asymptomatiques (Preller *et al.*, 1995 cité dans US EPA, 2016).

Seules deux études chez des enfants ont rapporté une association entre une exposition à l'ammoniac et une altération de la fonction respiratoire sans qu'aucune comparaison ne puisse être faite entre l'adulte et l'enfant (Casas *et al.*, 2013 ; Loftus *et al.*, 2015 cités dans US EPA,

2016). Cependant, on peut supposer que les enfants peuvent être plus vulnérables aux agents corrosifs que les adultes en raison du diamètre plus petit de leurs voies aériennes (ATSDR, 2004). Selon l'ATSDR (2004), les enfants exposés aux mêmes niveaux de vapeur d'ammoniac que les adultes peuvent recevoir une dose relative plus importante parce qu'ils présentent une plus grande surface pulmonaire rapportée au poids corporel et un plus grand volume minute rapporté au poids.

Les personnes atteintes de maladies hépatiques ou rénales sévères ou des troubles héréditaires du cycle de l'urée entraînant une hyperammoniémie, peuvent être plus sensibles aux effets de l'ammoniac. Ces niveaux élevés d'ammoniac peuvent prédisposer un individu à une encéphalopathie en raison de la capacité de l'ammoniac à traverser la barrière hémato-encéphalique. Ces effets sont particulièrement marqués chez les nouveau-nés. Ainsi, les personnes atteintes de maladies qui conduisent à une hyperammonémie pourraient être plus susceptibles aux effets de l'ammoniac à partir de sources externes, mais il n'existe pas d'étude qui soutienne spécifiquement cette susceptibilité (US EPA, 2016).

4 Recueil des valeurs toxicologiques de référence

4.1 VTR aiguës par inhalation

En 1999, l'**OEHHA** a proposé un REL (Risk exposure Level) aigu de 3,2 mg.m⁻³ pour une irritation oculaire et respiratoire mise en évidence dans 4 études humaines par inhalation réalisées par MacEwen *et al.* (1970), Silverman *et al.* (1949), Verberk (1977) et Industrial Biotest laboratories (1973). Dans l'étude de Silverman *et al.*, 7 hommes volontaires ont été exposés à 500 ppm d'ammoniac pendant 30 minutes en utilisant un masque couvrant le nez et la bouche (Silverman, 1949). Six volontaires avaient ressenti une irritation nasale et 2 volontaires au niveau de la gorge. Ces irritations ont persisté jusqu'à 24 heures chez 2 volontaires. Un larmoiement marqué a été observé chez 2 volontaires malgré l'exposition par masque oro-nasal. Aucune toux n'a été observée. Seuls 2 volontaires ont été capables de rester 30 min. Une hyperventilation pulmonaire (augmentation de la fréquence respiratoire et volume minute de 50-250%) a été mise en évidence chez tous les sujets, 3 immédiatement et 4 sujets 10 à 30 min après le début de l'exposition.

Dans l'étude de MacEwen *et al.*, 6 Hommes ont été exposés à 30 et 50 ppm d'ammoniac pendant 10 minutes *via* une chambre d'inhalation avec exposition de la tête uniquement (MacEwen *et al.*, 1970). Quatre des six sujets exposés à 50 ppm ont décrit une sensation d'irritation nasale et oculaire modérée. Tous les sujets ont jugé l'odeur « très pénétrante » à 50 ppm et 3 sujets à 30 ppm.

Dix volontaires ont été exposés 5 minutes à des concentrations de 32, 50, 72 ou 134 ppm de gaz ammoniac dans une chambre d'exposition dynamique. À 72 ppm, une irritation des yeux, du nez et de la gorge a été ressentie par respectivement 3, 2 et 3 volontaires. A la plus forte dose, les symptômes subjectifs suivants ont été notés : une irritation nasale (n = 7), oculaire (n = 5), au niveau de la gorge (n = 8) et de la poitrine (n = 1) et des larmoiements (n = 5) (Industrial Bio-Test Laboratories 1973 cité dans OEHHA, 1999a ; NRC, 2007 ; TCEQ, 2015 ; US EPA, 2016).

Dans l'étude de Verberk (1977), 16 volontaires ont été exposés pendant 2 h à 50, 80, 110 ou 140 ppm d'ammoniac (35, 57, 78 ou 99 mg.m⁻³). Huit d'entre eux, considérés comme « experts » (20-53 ans), connaissaient les effets toxiques de l'ammoniac *via* la littérature mais n'avaient jamais été en contact avec l'ammoniac, tandis que les huit sujets restants, considérés comme « non-experts » (18-30 ans), étaient des étudiants d'une faculté non scientifique et n'avaient aucune connaissance scientifique sur ce sujet. La capacité vitale forcée (CVF), le volume expiratoire maximal par seconde (VEMS) et le volume inspiratoire maximal par seconde (VIMS) ont été déterminés avant et après exposition sans qu'aucune modification significative de la fonction pulmonaire ne soit observée. Les auteurs n'ont pas mis en évidence d'hyperréactivité bronchique non spécifique à l'histamine. Enfin, les symptômes subjectifs (odeur, goût, irritation oculaire, nasale et gorge, gêne, envie de tousser, mal de tête) ont été recueillis toutes les 15 min et notés sur une échelle de 1 à 5. Dès 50 ppm, au moins un symptôme subjectif avec un score ≥ 3/5

(= nuisance) était noté après 30 min d'exposition (Tableau 10). Une irritation modérée des yeux, du nez et de la gorge a été observée chez les 8 sujets « non experts » avec une augmentation concentration-dépendante du nombre de plaintes pour nuisance olfactive, irritation des yeux et de la gorge, toux et inconfort général, pour les doses allant de 50 à 140 ppm. Les réponses subjectives semblaient plus prononcées dans le groupe « non expert ». À 140 ppm, tous les sujets « non experts » avaient quitté la chambre d'exposition avant les 2h considérant l'exposition intolérable. La concentration de 50 ppm a été considérée comme une LOAEC.

Tableau 10 : Scores moyen des réponses subjectives des volontaires « experts » et « non experts » à l'ammoniac (NRC, 2007)

Response	50 ppm		80 ppm		110 ppm		140 ppm ^c	
	Expert	Nonexpert	Expert	Nonexpert	Expert	Nonexpert	Expert	Nonexpert ^c
Smell								
½ h	2.0 (1-3) ^b	2.5 (2-3)	2.0 (1-3)	3.0 (2-4.5)	2.0 (2-3)	3.0 (2-4)	2.0 (1-3)	4.0 (2-4.5)
1 h	2.0 (1-3)	2.5 (1-4)	2.0 (1-3)	3.0 (2-4)	2.0 (2-3)	3.0 (2-4)	2.0 (1-3)	4.0 (3.5-4.5)
2 h	2.0 (0.5-3)	3.0 (2-4)	1.5 (0.5-3)	3.0 (2-4)	2.0 (1.5-3)	3.0 (2-4)	2.0 (1-3)	WD ^c
Eye irritation								
½ h	1.5 (0-3)	0.8 (0-3)	1.5 (1-2)	1.5 (0-4)	2.5 (1-3)	2.5 (0-4)	3.0 (1.5-3.5)	3.0 (1-4.8)
1 h	1.5 (0-3)	0.8 (0-3)	2.0 (0-3)	1.5 (0-3)	2.5 (2-3.5)	2.5 (0-4)	2.0 (2-3)	3.5 (1-5)
2 h	1.0 (0-2)	1.2 (0-3)	1.5 (0-2)	2.0 (0-4)	2.0 (0.3-3)	2.5 (0-4)	2.5 (1-3)	WD
Throat irritation								
½ h	0.4 (0-2)	0.4 (0-1)	0.8 (0-2)	1.0 (0-3)	1.5 (0-3.5)	2.0 (0-4)	1.0 (0-2)	3.7 (3.5-5)
1 h	0.4 (0-3)	0.5 (0-3)	1.0 (0-3)	1.4 (1-3)	1.4 (0-3)	2.5 (1-4)	1.5 (0-2)	4.5 (2-4)
2 h	0.7 (0-3)	1.5 (0-3)	0.8 (0-2)	2.0 (0-4)	1.0 (0-2)	3.0 (2-4)	1.0 (0-3.7)	WD
Urge to cough								
½ h	0.2 (0-1.2)	0.2 (0-1)	0.3 (0-1)	0.5 (0-2)	0.8 (0-2)	1.5 (0-2)	0.5 (0-2)	2.0 (0-5)
1 h	0.3 (0-2)	0.2 (0-2)	0.5 (0-2)	1.0 (0-2)	0.5 (0-3.5)	1.7 (0-3)	0.6 (0-2.5)	1.7 (0-3)
2 h	0.3 (0-2)	0.4 (0-2)	0.4 (0-2)	0.3 (0-4)	0.3 (0-2.5)	1.7 (0-4)	0.4 (0-2.3)	WD
General discomfort								
½ h	0	0.1 (0-1)	0	1.0 (0-3)	0.2 (0-2)	1.0 (0-3)	0	2.2 (0-4)
1 h	0	0.2 (0-1)	0	1.2 (0-3)	0.2 (0-1)	1.2 (0-3)	0	3.3 (0-4.7)
2 h	0	1.0 (0-2)	0	1.3 (0-3)	0.3 (0-1)	1.5 (0-4)	0	WD
Irritation to chest	Similar to urge to cough, but scores tended to be a little lower.							

^aExpert subjects: individuals who were familiar with the effects of ammonia and who had no previous exposure; nonexperts students were unfamiliar with the effects of ammonia or with experiments in laboratory situations.

^bBased on a scale of 1-5: 0 = no sensation; 1 = just perceptible; 2 = distinctly perceptible; 3 = nuisance; 4 = offensive; and 5 = unbearable.

^cOnly four of the nonexpert subjects tolerated the ammonia for 1 h; none of the nonexpert subjects tolerated the ammonia for 2 h.

L'OEHHA a ajusté les concentrations issues des différentes études sur 1 h selon la loi de Haber ($C^n \times t = k$ avec $n = 4,6$). Ce coefficient a été calculé à partir d'une analyse log-normale probit sur l'ensemble des données issues des 4 études et d'une analyse X^2 (Tableau 11).

Tableau 11 : Concentrations issues des études clés retenues par l'OEHHA et ajustées sur 1 heure

Concentration de l'étude (ppm)	32	30	50	50	72	50	80	134	110	140	500
Temps d'exposition (min)	5	10	5	10	5	120	120	5	60	60	30
Concentration ajustée sur 1h	19	20	29	34	42	43	69	78	95	120	430
Irritation oculaire et respiratoire	0/10	0/5	0/10	4/6	3/10	7/16	9/16	8/10	12/16	15/16	7/7
Étude	2	3	2	2	1	1	1	2	1	1	4

Études : 1 - Verberk (1977) ; 2- Industrial Biotest laboratories (1973) ; 3 – MacEwen *et al.* (1970) ; 4 - Silverman *et al.* (1949)

L'OEHHA a ensuite dérivé une benchmark concentration (BMC) de 20,1 ppm et une $BMC_{5\%L_{95\%}}$ de 13,6 ppm (Crump et Howe, 1983 ; Crump 1984 cités par OEHHA, 1999a) (Figure 1).

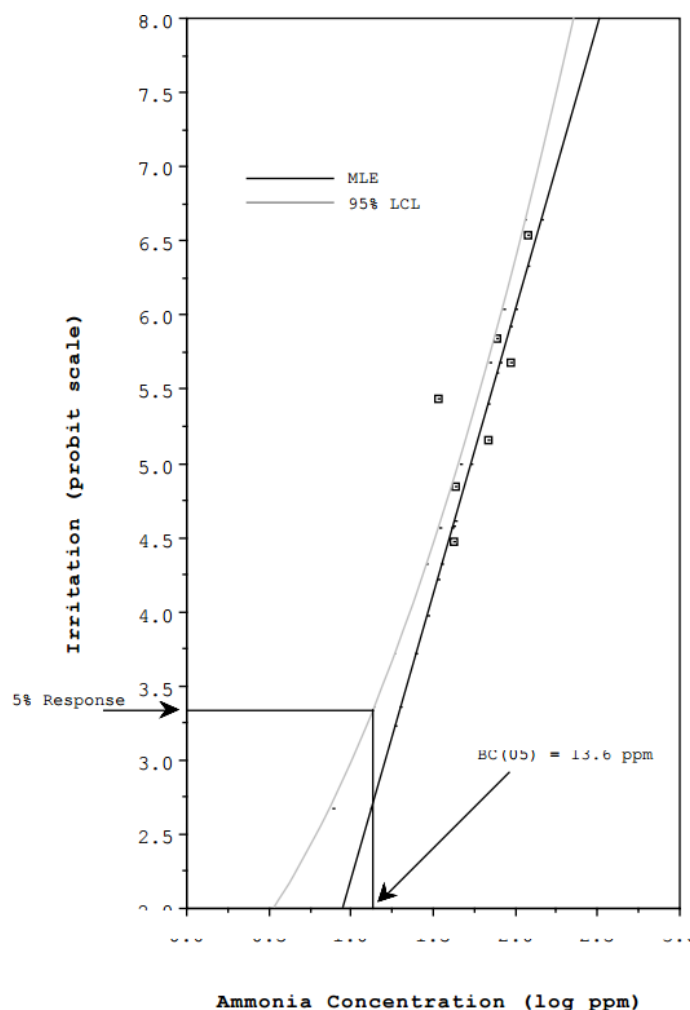


Figure 1 : BMC et BMCL dérivées par l'OEHHA

Un facteur d'incertitude de 3 a été appliqué par l'OEHHA à la $BMC_{5\%L_{95\%}}$ pour prendre en compte la variabilité interindividuelle car des expositions court terme à l'ammoniac n'aggravaient pas la toxicité nasale observée chez des sujets atopiques par rapport aux sujets non atopiques (McLean *et al.*, 1979 cité dans OEHHA, 1999a).

En 2004, un MRL (Minimal Risk Level) de $1,19 \text{ mg.m}^{-3}$ a été proposé par l'**ATSDR**. Il repose sur l'étude de Verberk (1977) décrite ci-dessus. L'ATSDR note plusieurs limites : absence de groupe « témoins », taux de réponse plus élevé chez les sujets « non experts » par rapport aux « experts » et absence d'analyse statistique des résultats par les auteurs de la publication. Néanmoins, l'ATSDR l'a retenue pour définir son MRL. Cette étude a permis de mettre en évidence des phénomènes d'inconfort chez des personnes en bonne santé dès 50 ppm (LOAEC). Les effets observés étant des effets d'irritation locale et donc plus dépendants de la concentration que du temps, l'ATSDR n'a pas jugé nécessaire de réaliser un ajustement sur 24 h. Un facteur d'incertitude de 30 a été appliqué (10 pour protéger les individus sensibles et 3 pour l'utilisation d'une LOAEC).

En **2015**, la Texas Commission on Environmental quality (**TCEQ**) a publié une ReV (reference value) aiguë fondée sur l'étude de Sundblad *et al.* (2004) (TCEQ, 2015). Douze volontaires ont été exposés à 0, 5 ou 25 ppm d'ammoniac pendant 3 h dans une chambre d'exposition de 20 m³ en acier inoxydable (Sundblad *et al.*, 2004). Les séances d'exposition comprenaient des périodes de repos et d'exercice (vélo 50W) qui alternaient toutes les 30 min. Ces séances ont été répétées 3 fois avec une période de repos d'une semaine entre chaque séance. Aucun volontaire ne présentait un historique de maladie respiratoire. La fonction pulmonaire par la mesure de la capacité vitale (CV) et du volume expiratoire maximal par seconde (VEMS) ainsi que l'oxyde d'azote (NO) exhalé a été évaluée une semaine avant la première exposition et 7 h après l'exposition. Le débit expiratoire de pointe (DEP) a également été mesuré avant l'exposition, immédiatement après l'exposition et 7 h après l'exposition. Afin de déterminer si l'exposition à l'ammoniac modifiait la réactivité bronchique, les volontaires ont été soumis à un test de provocation à la méthacholine. Aucun de ces paramètres n'était statistiquement significativement différent du groupe témoin. Aucune modification liée au traitement n'a été observée dans les évaluations de la réponse inflammatoire (liquide de lavage nasal, le sang et l'oxyde d'azote exhalé recueillis 30 minutes avant l'exposition et 7 heures après l'exposition). Les volontaires ont également évalué via un questionnaire standardisé leur niveau d'inconfort (inconfort au niveau des yeux, du nez, de la gorge ou des voies respiratoires, difficulté à respirer, odeur de solvant, maux de tête, fatigue, nausées, étourdissements et sensation d'ivresse) à intervalles réguliers tout au long de la session d'exposition (immédiatement avant, pendant et après l'exposition) et l'ont noté sur une échelle visuelle analogique. Cette étude a montré que l'inhalation d'ammoniac (5 et 25 ppm) provoque des symptômes, mais pas de réaction inflammatoire au niveau des voies aériennes supérieures, aucune altération des niveaux de NO exhalé et aucune altération de la réponse bronchique à la méthacholine chez les sujets en bonne santé. Une augmentation statistiquement significative des effets irritants et des symptômes généraux a été observée à 25 ppm. À 5 ppm, les notes attribuées à l'inconfort/irritation oculaire, à l'odeur de solvant, au mal de tête, au vertige et à la sensation d'intoxication étaient significativement augmentées. Sur la base de symptômes subjectifs transitoires (inconfort oculaire, mal de tête, vertiges et sensation d'intoxication), la concentration de 5 ppm est considéré comme une LOAEC par le TCEQ.

Cette étude était supportée par l'étude de Verberk (1977) dans laquelle une LOAEC de 50 ppm était identifiée pour des symptômes subjectifs d'irritation.

Aucun ajustement temporel n'a été réalisé car les effets aigus locaux induits par l'ammoniac semblent être concentrations-dépendants et non temps-dépendants. Le TCEQ a ensuite appliqué un facteur d'incertitude de 6 à la LOAEC afin de prendre en compte :

- La variabilité interindividuelle (UF_H de 3) car des études court terme ont montré que les asthmatiques étaient aussi sensibles aux effets irritants de l'ammoniac que les individus sains (Sigurdason *et al.*, 2004 et Petrova *et al.*, 2008 cité par le TCEQ, 2015)
- L'utilisation d'une LOAEC (UF_L) de 2 car les effets retenus sont des effets irritants locaux transitoires et que la LOAEC retenue est la plus faible parmi celles identifiées dans les autres études.

Tableau 12 : VTR aiguës par inhalation pour l'ammoniac

Organisme (année)	Effet critique Étude source	Dose critique	UF	VTR
OEHHA (1999)	Irritations oculaire et respiratoire modérées <i>Industrial Biotest Laboratories, 1973 ; MacEwen et al., 1970 ; Silverman et al., 1949 ; Verberk, 1977 : études sur volontaires</i>	Concentrations des études ajustées sur 1h $BMC_{5L95} = 9,5 \text{ mg.m}^{-3}$	3 $UF_H = 3$	$REL_A = 3,2 \text{ mg.m}^{-3}$ (4,5 ppm)
ATSDR (2004)	Irritation modérée des yeux, du nez et de la gorge <i>Verberk, 1977 : étude sur travailleurs volontaires</i>	$LOAEC = 35 \text{ mg.m}^{-3}$ (50 ppm)	30 $UF_H = 10$ $UF_L = 3$	$MRL_A = 1,19 \text{ mg.m}^{-3}$ (1,69 ppm)
TCEQ (2015)	Inconfort/irritation oculaire, odeur de solvant, maux de tête, étourdissements et sentiments d'intoxication <i>Sundblad et al., 2004 : étude sur des volontaires : supportée par Verberk, 1977</i>	$LOAEC = 3,55 \text{ mg.m}^{-3}$ (5 ppm)	6 $UF_H = 3$ $UF_L = 2$	Acute ReV = $0,59 \text{ mg.m}^{-3}$ (0,833 ppm)

4.2 VTR subchronique par inhalation

Aucune VTR subchronique n'a été recensée.

L'ATSDR n'a pas dérivé de MRL intermédiaire (ATSDR, 1999). L'ammoniac étant un gaz irritant et corrosif qui entraîne des effets au niveau du point d'entrée dans l'organisme et des irritations oculaires et du tractus respiratoire, l'ATSDR considère préférable d'utiliser des données humaines plutôt que des études animales.

La seule étude disponible est celle de Ferguson *et al.* (1977). Dans cette étude, 4 volontaires sains ont été exposés à l'ammoniac 5 jours par semaine à 25 ppm (18 mg.m^{-3}) (2 h/j), 50 ppm (35 mg.m^{-3}) (4 h/j) ou 100 ppm (71 mg.m^{-3}) (6 h/j) pendant 1 semaine (chaque individu est exposé à chaque concentration 2 fois). Deux volontaires ont été exposés à 50 ppm 6 h/j, 5 jours/semaines pendant 6 semaines. Le protocole d'exposition comprend une évaluation par un médecin avant l'exposition (témoin), 3 h d'exposition, une observation à mi-exposition par un médecin, une pause déjeuner, de nouveau 3 h d'exposition puis une dernière observation par le médecin. L'exposition à l'ammoniac n'a pas entraîné d'effet significatif sur les mesures de la fonction respiratoire (CVF, VEMS) et les tests neurologiques (reflexe, équilibre et coordination). Tous les volontaires présentaient des larmoiements et une sensation de sécheresse nasale et au niveau de la gorge. Le médecin a évalué le degré d'irritation chaque jour avant et après exposition et a noté 6 cas d'irritation oculaire, 20 d'irritation nasale et 9 d'irritation de la gorge, la majorité apparaissant la

première semaine d'exposition à 50 ppm. L'ATSDR souligne la difficulté de déterminer dans cette étude une NOAEC ou une LOAEC pour l'irritation à cause des différentes durées d'exposition. Par ailleurs, l'ATSDR stipule qu'une incohérence entre les durées d'exposition décrites dans le texte et celles décrites dans un tableau de synthèse de la publication a été mise en évidence.

L'ATSDR n'a pas utilisé une étude animale pour construire sa MRL intermédiaire car les études disponibles ont été réalisées avec des concentrations plus fortes que la LOAEC identifiée pour une exposition aiguë et ne sont pas d'assez bonne qualité.

4.3 VTR chroniques par inhalation

4.3.1 VTR à seuil

L'OEHHA (1999), l'ATSDR (2004) et l'US EPA (2016) ont proposé des VTR à seuil par voie respiratoire (Tableau 13).

Tableau 13 : Synthèse des VTR chroniques par voie respiratoire pour l'ammoniac

Organisme (année)	Effet critique Étude source	Dose critique	UF	VTR
OEHHA (1999)	Absence de preuve d'une altération de la fonction pulmonaire ou de symptômes subjectifs <i>Holness et al. 1989 : étude chez des travailleurs, supportée par Broderson et al. 1976 : étude subchronique sur des rats</i>	NOAEC = 6,4 mg.m ⁻³ <u>Ajustement temporel</u> NOAEC _{ADJ} = NOAEC x 5/7 x 10/20 = 2,3 mg.m ⁻³	10 UF_H 10	REL _c = 0,2 mg.m ⁻³ (0,28 ppm)
ATSDR (2004)	Absence de preuve d'une altération de la fonction pulmonaire ou de symptômes subjectifs <i>Holness et al., 1989 : étude chez des travailleurs</i>	NOAEC = 6,4 mg.m ⁻³ <u>Ajustement temporel</u> NOAEC _{ADJ} = NOAEC x 8/24 x 5/7 = 1,5 mg.m ⁻³	30 UF_H 10 UF_D 3	MRL = 0,07 mg.m ⁻³ (0,1 ppm)
TCEQ (2015)	Absence de preuve d'une altération de la fonction pulmonaire ou de symptômes subjectifs <i>Holness et al., 1989 : étude chez des travailleurs</i>	NOAEC = 12,5 ppm (8,8 mg.m ⁻³) <u>Ajustement temporel</u> NOAEC _{ADJ} = NOAEC x 10/20 x 5/7 = 4,464 ppm	10 UF_H 10	Chronic ReV = 0,32 mg.m ⁻³ (450 ppb)
US EPA (2016)	Diminution de la fonction pulmonaire et augmentation des symptômes respiratoires (toux, respiration sifflante, autres symptômes liés à l'asthme) <i>Holness et al., 1989 supportée par Rahman et al., 2007 ; Ballal et al., 1998 et Ali et al., 2001 : études chez des travailleurs</i>	Modélisation de l'exposition (log normale) → limite inférieure de l'IC _{95%} du groupe d'exposition le plus exposée → NOAEC = 13,6 mg.m ⁻³ <u>Ajustement temporel</u> NOAEC _{ADJ} = NOAEC x 10/20 x 5/7 = 4,9 mg.m ⁻³	10 UF_H 10	RfC = 0,5 mg.m ⁻³ (0,71 ppm)

RfC: reference concentration for inhalation, REL: recommended exposure level, MRL : minimum risk level

L'**OEHHA** a fondé sa REL de 0,2 mg.m⁻³ sur l'étude d'Holness *et al.* (1989) menée sur une cohorte de 58 travailleurs dans une usine de fabrication de carbonate de soude et comparé à un groupe de 31 travailleurs non-exposés, pour une durée moyenne d'exposition de 12,2 années. La moyenne d'exposition des travailleurs exposés était de 6,5 mg.m⁻³ (9,2 ppm) contre 0,21 mg.m⁻³ (0,3 ppm) pour le groupe témoin. Les travailleurs exposés ont été groupés dans 3 catégories d'exposition : faible (< 6,25 ppm), moyen (6,25 – 12,5 ppm) et élevée (> 12,5 ppm). Un questionnaire adressé

aux participants permettait de recueillir des informations sur les expositions professionnelles passées, les conditions de travail, le tabagisme, les antécédents médicaux (symptômes oculaire, cutané et respiratoire). Des mesures spirométriques (CVF, VEMS, DEF_{50%}CVF⁸, DEF_{75%}CVF) étaient également effectuées en début et fin de journée, lors du premier et dernier jour de travail de la semaine afin d'évaluer les fonctions pulmonaires des deux groupes. L'étude n'a pas montré de différence significative entre les travailleurs exposés et les non-exposés en termes de symptômes et de fonction pulmonaire. Cette étude a été retenue car l'OEHHA considère que c'est la seule étude publiée dans une revue scientifique à comité de lecture qui évalue la toxicité chronique de l'ammoniac chez l'Homme. De plus, les conclusions de cette étude sont confortées par les résultats issus d'une expérimentation contrôlée chez des volontaires (Ferguson *et al.*, 1977) et que les effets sont cohérents avec des observations faites chez l'animal (Coon *et al.*, 1970 cité dans OEHHA, 1999b).

L'OEHHA a également utilisé l'étude subchronique de Broderson *et al.* (1976) dans laquelle des rats Sherman et Fischer ont été exposés en continu à 0, 25, 50, 150 ou 250 ppm d'ammoniac (0, 18, 36, 107 ou 179 mg.m⁻³) pendant 7 jours avant l'inoculation intranasale de *Mycoplasma pulmonis* (afin de produire le mycoplasme respiratoire murin MRM), puis des jours 28 à 42 suivant l'inoculation. Les témoins étaient exposés uniquement à l'ammoniac ambiant. L'observation clinique et l'évaluation des effets sur les conduits nasaux, oreilles moyennes, trachée, poumons, foie et reins ont montré que l'ammoniac, sous toutes ses formes, augmentait de façon significative la sévérité de la rhinite, l'otite moyenne, la trachéite et la pneumonie, caractéristiques de l'atteinte de *M. Pulmonis* (LOAEC = 25 ppm). Le nombre de lésions respiratoires caractéristiques du MRM était augmenté de façon proportionnelle aux concentrations environnementales. La sévérité des lésions microscopiques sur les conduits nasaux, oreilles moyennes, trachée et poumons était également plus importante chez les animaux traités. À 250 ppm, les rats non exposés à *M. Pulmonis* développaient des lésions non retrouvées chez les rats inoculés, à savoir un épaississement de l'épithélium et une hyperplasie épithéliale.

Sur la base de ces 2 études, l'OEHHA a considéré une NOAEC de 9,2 ppm comme concentration critique (LOAEC = 25 ppm). Un ajustement temporel a été réalisé à la NOAEC de 6,4 mg.m⁻³ (9,2 ppm) en prenant en compte le rapport de volume minute chez le travailleur et celui dans la population générale et le nombre de jours par semaine. Un facteur d'incertitude de 10 a été appliqué pour tenir compte de la variabilité interindividuelle (UF_H). Cependant, les limites de cette construction sont l'absence d'une NOAEC et d'une LOAEC identifiées à partir d'une même étude, la difficulté de définir les niveaux d'exposition chez l'Homme et l'absence de données de toxicité chronique chez l'animal (observations histopathologiques au niveau respiratoire notamment).

⁸ Débit expiratoire forcé à 50 et 75% de la capacité vitale forcée

En 2004, l'**ATSDR** a proposé une MRL de 0,1 ppm pour des symptômes respiratoires (toux, bronchite, sifflement, dyspnée, etc.), odeur, irritation oculaire et nasale et modifications des fonctions pulmonaires observés chez des travailleurs exposés (NOAEC = 6,4 mg.m⁻³) (Holness *et al.*, 1989). Un ajustement temporel a été réalisé (NOAEC_{ADJ} = 1,5 mg.m⁻³) puis un facteur d'incertitude de 30 a été appliqué pour protéger les individus sensibles (UF_H = 10) et prendre en compte le manque d'étude de reprotoxicité (UF_D = 3).

En 2015, le **TCEQ** a proposé une ReV chronique de 0,32 mg.m⁻³ sur la base de l'étude d'Holness *et al.* (TCEQ, 2015). Comme aucune association significative n'a été mise en évidence entre l'exposition et les symptômes auto-déclarés ou les paramètres de la fonction respiratoire, une NOAEC a été identifiée dans cette étude. Le TCEQ a considéré la concentration de 12,5 ppm (8,8 mg.m⁻³) comme NOAEC (concentration du groupe d'exposition forte). Un ajustement temporel a été réalisé auquel a été appliqué un facteur d'incertitude de 10 pour prendre en compte la variabilité intra-espèce. En effet, les individus sensibles aux effets respiratoires, ayant des maladies respiratoires ou présentant des pathologies rénales ou hépatiques entraînant une hyperammoniémie pourraient être plus sensibles aux effets de l'ammoniac.

En 2016, l'**US EPA** a proposé une RfC de 0,5 mg.m⁻³ pour des symptômes respiratoires et une diminution de la fonction pulmonaire (US EPA, 2016). L'étude de Holness *et al.* (1989) a servi d'étude clé et a été supportée par 3 études dans des usines d'engrais uréiques (Rahman *et al.*, 2007 ; Ballal *et al.*, 1998 ; Ali *et al.*, 2001).

Rahman *et al.* (2007) ont mis en évidence une augmentation de la prévalence des symptômes respiratoires (toux, oppression thoracique) chez des travailleurs exposés dans une usine (concentration moyenne : 18,5 mg.m⁻³) mais pas chez les travailleurs d'une deuxième usine (concentration moyenne : 4,9 mg.m⁻³). La diminution de la fonction pulmonaire (CVF, VEMPS) entre le début et la fin du quart de travail dans le groupe exposé à une forte exposition (2-3 %) était statistiquement significative. L'exposition a été mesurée par des détecteurs personnels au moyen de deux méthodes d'analyse différentes (tube Dräger et Dräger PAC III). L'US EPA a jugé la méthode Dräger PAC III comme plus sensible que celle utilisant des tubes Dräger.

Ballal *et al.* (1998) ont observé une augmentation de la prévalence des symptômes respiratoires (toux, expectorations, respiration sifflante et dyspnée) chez les travailleurs d'une usine d'engrais avec des expositions de 2 à 27,1 mg.m⁻³ (usine A)⁹, mais aucune augmentation dans une autre usine avec des expositions allant de 0,02 à 7 mg.m⁻³ (usine B). La fonction pulmonaire n'a pas été étudiée.

⁹ Cette gamme de concentration n'inclut pas l'exposition dans la réserve d'engrais (n travailleurs = 6, concentrations en ammoniac : 90-130,4 mg.m⁻³) car les employés devaient porter des équipements de protection.

Ali *et al.* (2001) ont également observé une diminution de la fonction pulmonaire chez les travailleurs de l'usine A de l'étude de Ballal *et al.* exposés à des niveaux d'ammoniac cumulatifs plus élevés ($> 50 \text{ mg.m}^{-3}\text{-années}$), avec une diminution d'environ 5-7% de la CVF et du VEMS. Les symptômes respiratoires n'ont pas été évalués. Dans cette étude et celle de Ballal *et al.* (1998), l'exposition a été mesurée sur une période 8h.

Enfin, l'étude d'Holness *et al.* (1989) n'a révélé aucune différence dans la prévalence des symptômes respiratoires ou de la fonction pulmonaire entre les travailleurs dans une usine avec des expositions inférieures à celles des autres études (exposition moyenne $6,5 \text{ mg.m}^{-3}$) et le groupe témoin, et aucune différence lorsque l'exposition était stratifiée en 3 groupes (groupe d'exposition le plus élevé $> 8,8 \text{ mg.m}^{-3}$).

Bien que l'étude d'Holness *et al.* ne rapporte pas d'association entre l'ammoniac et les effets respiratoires, elle a été retenue comme étude clé car elle était de meilleure qualité que les autres études (prise en compte de facteurs de confusion appropriée, forte confiance dans les mesures d'exposition, faible potentiel de co-exposition à d'autres substances chimiques, évaluation des symptômes respiratoires et des paramètres de la fonction pulmonaire) et qu'elle a identifié la NOAEC la plus élevée par rapport aux autres études. L'US EPA a retenu comme concentration critique la moyenne des concentrations dans le groupe le plus exposé. N'ayant pas pu récupérer les données individuelles de l'étude afin de calculer la moyenne d'exposition du groupe le plus exposé, l'US EPA a modélisé les concentrations d'exposition en considérant qu'elles suivaient une distribution log normale et a utilisé la distribution des fréquences issues de l'étude d'Holness *et al.* (1989) pour évaluer la moyenne et l'écart-type de la distribution (Tableau 14). Pour le groupe le plus exposé, la moyenne d'exposition estimée était de $17,9 \text{ mg.m}^{-3}$ et la limite inférieure de l'IC_{95%} de $13,6 \text{ mg.m}^{-3}$.

Tableau 14 : Distribution des fréquences issues de l'étude d'Holness *et al.* (1989)

Groupe d'exposition	Concentrations en mg.m^{-3} (ppm)	Nombre de travailleurs exposés
Faible	0-4,4 (0-6,25)	34
Moyen	4,4-8,8 (6,25-12,5)	12
Fort	8,8-17,7 (12,5-25)	9
	$>17,7$ (>25)	3

L'US EPA a retenu comme concentration critique la limite inférieure de l'IC_{95%} de la concentration moyenne d'exposition dans le groupe le plus exposé, soit $13,6 \text{ mg.m}^{-3}$ (NOAEC). Un ajustement temporel a été effectué en considérant le ratio des volumes minutes chez le travailleur et la population générale et une exposition de 5 jours sur 7. Un facteur d'incertitude de 10 par défaut a été appliqué pour prendre en compte la variabilité interindividuelle.

L'US EPA a attribué à cette RfC un niveau de confiance moyen en considérant :

- Un niveau de confiance moyen à l'étude clé car l'étude clé, bien qu'ayant un design approprié, a été réalisée sur un petit effectif et n'a pas permis d'identifier de LOAEC ;
- Un niveau de confiance moyen à la base de données car aucune étude sur le développement n'était disponible et que les études de reprotoxicité et sur d'autres effets

systemiques étaient limitées. Cependant, l'US EPA juge faible la probabilité de survenue car l'ammoniac est produit de manière endogène chez l'Homme et l'animal et qu'aucun changement significatif des niveaux sanguins d'ammoniac n'est attendu à la concentration critique.

4.3.2 VTR sans seuil pour les effets cancérogènes

Aucune VTR sans seuil n'a été recensée.

5 Proposition de VTR aiguë par voie respiratoire

5.1 Choix de l'effet critique

Les données disponibles, aussi bien chez l'Homme que chez l'animal, fournissent des preuves solides qu'une exposition aiguë à l'ammoniac par inhalation peut entraîner des lésions au niveau du site de contact, principalement les yeux et les voies respiratoires.

Chez l'Homme, dès 5 ppm (3,5 mg.m⁻³), quelques symptômes subjectifs tels qu'un inconfort oculaire, des maux de tête, des vertiges et une sensation d'intoxication ont été ressentis (Sundblad *et al.*, 2004). Dès 25-50 ppm (17,7 – 35,4 mg.m⁻³), un plus grand nombre de symptômes ont été observés chez des volontaires exposés au repos ou avec une alternance de périodes de repos et d'exercice physique : sensations d'irritations oculaires, nasales, au niveau de la gorge et de la poitrine, envie de tousser, odeur pénétrante, sécheresse nasale, difficulté à respirer, mal de tête, fatigue, nausée, vertige et sensation d'intoxication (Silverman *et al.*, 1949 ; Verberk, 1977 ; Wallace, 1978 ; Sundblad *et al.*, 2004 ; Pacharra *et al.*, 2016).

Des symptômes respiratoires objectifs ont été mis en évidence à des doses plus élevées tels qu'une augmentation de la fréquence respiratoire, une augmentation de la résistance aérienne nasale et des modifications de paramètres ventilatoires et spirométriques dès 85 ppm (60,1 mg.m⁻³) (Silverman *et al.*, 1949 ; Cole *et al.*, 1977 ; MacLean *et al.*, 1979 ; Douglas et Coe, 1987). D'autres études concluent à une absence d'effet respiratoire objectif à des concentrations comprises entre 16-20 ppm (11,3 mg.m⁻³) et 50 ppm (35,4 mg.m⁻³) (Verberk, 1977 ; MacEwen *et al.*, 1970 ; Sigurdarson *et al.*, 2004 ; Sundblad *et al.*, 2004).

Ainsi, le CES a décidé de retenir comme effet critique les effets respiratoires objectifs.

5.2 Analyse des VTR existantes

Trois VTR aiguës sont disponibles : une VTR élaborée par l'OEHHA en 1999, une par l'ATSDR en 2004 et une par le TCEQ en 2015. Les 3 VTR proposées sont établies sur des symptômes subjectifs.

Les 3 VTR aiguës par inhalation proposées sont issues de l'exploitation de données humaines :

- La VTR proposée par l'ATSDR repose sur la seule étude de Verberk (1977), à la différence de l'OEHHA qui compile les résultats de 4 études différentes, incluant également celle de Verberk. Comme indiqué par l'ATSDR, cette étude comporte un certain nombre de limites importantes, tant sur la caractérisation des effets néfastes que sur leur interprétation statistique : absence de groupe témoins, absence d'analyse statistique des résultats, taux de réponse plus élevé chez les sujets « non experts » par rapport aux « experts » pouvant indiquer un biais lié à l'odeur.

- L'OEHHA a compilé les résultats de plusieurs études différentes (dont l'étude de Verberk, 1977) au moyen d'une modélisation benchmark dose, dont l'un des principaux intérêts est de disposer d'un intervalle de confiance pour chacune des valeurs décrivant la relation dose-réponse. Cette approche soulève la question de la pertinence de la compilation de données expérimentales différentes (protocoles expérimentaux différents, accès aux données individuelles *etc.*). De plus, des limites ont été identifiées dans les études sélectionnées telles que l'absence de groupe témoin dans les études de Verberk (1977) et MacEwen *et al.* (1970) ou l'inaccessibilité à la publication (MacEwen *et al.*, 1970 ; Industrial Bio-Test Laboratories, 1973).
- La valeur proposée par le TCEQ est fondée sur une étude récente (Sundblad *et al.*, 2004) qui met en évidence des effets subjectifs dès 5 ppm. Les volontaires étaient exposés 3 h avec une alternance toutes les 30 min de repos et d'exercice physique augmentant la ventilation pulmonaire. Les auteurs n'ont mis en évidence que des symptômes subjectifs. Quelques effets subjectifs transitoires (inconfort oculaire, mal de tête, vertiges et sensation d'intoxication) ont été notés à la plus faible dose, considérée par le TCEQ comme une LOAEC, alors que l'intégralité des effets subjectifs était notée à 25 ppm. Ainsi, le CES retenant les effets respiratoires objectifs comme effet critique, la dose de 25 ppm a été considérée comme une NOAEC. De plus, le choix des facteurs d'incertitude ne suit pas la méthode d'élaboration des VTR de l'Anses (Anses, 2017).

Ainsi, compte tenu de ces limites, le CES ne retient pas les valeurs existantes et propose de construire une VTR aiguë par inhalation.

5.3 Construction de la VTR aiguë

5.3.1 Choix de l'étude clé et de la dose critique

Plusieurs études d'exposition contrôlée chez des volontaires mettent en évidence des effets respiratoires subjectifs ou objectifs ainsi qu'une LOAEC et/ou une NOAEC (Tableau 15).

Tableau 15 : Études permettant de construire une VTR aiguë

Référence (Pays)	LOAEC/NOAEC	Retenue comme étude clé	Commentaires
Silverman <i>et al.</i> , 1949	LOAEC = 500 ppm	OEHHA (1999) – REL _A INERIS (2003) – seuils accidentels des effets irréversibles	- Absence d'analyse statistique et de groupe témoin - Mise en évidence d'effets objectifs et subjectifs
MacEwen <i>et al.</i> , 1970	LOAEC = 50 ppm	OEHHA (1999) – REL _A NRC (2008) - AEGL-1 et 3	- Inaccessibilité de la publication - Absence de groupe témoin - Mise en évidence d'effets subjectifs
Industrial Bio-Test Laboratories, 1973	NOAEC = 50 ppm LOAEC = 72 ppm	OEHHA (1999) – REL _A	- Inaccessibilité de la publication - Absence de groupe témoin - Mise en évidence d'effets subjectifs
Cole <i>et al.</i> , 1977	NOAEC = 101 ppm LOAEC = 150 ppm	INERIS (2003) – seuils accidentels des effets réversibles	- Exposition avec alternance repos et activité physique → condition d'exposition peu réaliste mais protectrice - Mise en évidence d'effets objectifs et subjectifs
Verberk, 1977	LOAEC = 50 ppm	OEHHA (1999) – REL _A ATSDR (2004) - MRL _A INERIS (2003) - seuil accidentel des effets réversibles NRC (2008) - AEGL-2	- Absence de groupe témoin - Taux de réponse subjective > chez les non-experts - Absence d'analyse statistique - Mise en évidence d'effets subjectifs - Absence d'effet objectif
Wallace, 1978	LOAEC = 150 ppm	INERIS (2003) - seuils accidentels des effets réversibles	- Inaccessibilité de la publication - Mise en évidence d'effets subjectifs
MacLean <i>et al.</i> , 1979	LOAEC = 100 ppm	/	- Observations d'effets objectifs - Une seule dose testée - Mise en évidence d'effets objectifs
Sundblad <i>et al.</i> , 2004	NOAEC = 25 ppm	TCEQ (2015)	- Mise en évidence d'effets subjectifs - Absence d'effet objectif - Exposition avec alternance repos et activité physique → condition d'exposition peu réaliste mais protectrice
Sigurdarson <i>et al.</i> , 2004	NOAEC = 16-20 ppm	/	- Absence d'effet objectif aux doses testées

Les études suivantes n'ont pas été jugées de qualité suffisante du fait :

- d'absence de groupe témoin : Silverman *et al.* (1949), MacEwen *et al.* (1970) ; Industrial Bio-Test Laboratories (1973), Verberk (1977) ;
- d'absence d'analyse statistique : Silverman *et al.* (1949) et Verberk (1977) ;
- d'absence de relation dose-réponse ; en effet, les études de Silverman *et al.* (1949), MacLean *et al.* (1979) et Sigurdarson *et al.* (2004) n'ont testé qu'une seule dose ;
- d'incertitude sur la concentration d'exposition : Sigurdarson *et al.* (2004) (valeur pas similaire entre le résumé (16-25 ppm) et le corps du texte (16-20 ppm)) ;
- de l'inaccessibilité des études : MacEwen *et al.* (1970), Industrial Bio-Test Laboratories (1973) et Wallace (1978).

Parmi les 2 études restantes (Cole *et al.*, 1977 et Sundblad *et al.*, 2004), seule l'étude de Cole *et al.* (1977) met en évidence des effets objectifs, à savoir une augmentation de la fréquence respiratoire moyenne et une diminution du volume minute dès 150 ppm ainsi qu'une augmentation du volume courant à 150 ppm qui diminue ensuite aux 2 plus fortes doses, chez 18 volontaires faisant de l'exercice (NOAEC = 101 ppm). Des effets objectifs sont également observés : une augmentation de la résistance des voies aériennes à 85 ppm (Douglas et Coe, 1987) et une augmentation de la résistance nasale avec le temps d'exposition à 100 ppm (MacLean *et al.*, 1979). Une absence d'effet respiratoire objectif a également été observée dans les études suivantes :

- Verberk (1977) chez des 8 volontaires « experts » et 8 « non experts » dès 50 ppm (spirométrie, test à l'histamine),
- MacEwen *et al.* (1970) chez 6 volontaires à 50 ppm (hyperréactivité bronchique),
- Sigurdarson *et al.* (2004) chez 6 volontaires sains et 8 asthmatiques à 16-20 ppm (spirométrie, NO exhalé, hyperréactivité bronchique),
- Sundblad *et al.* (2004) chez 12 volontaires sains réalisant une activité physique à 5 et 25 ppm (spirométrie, hyperréactivité bronchique, concentration IL-6 et 8, composition cellulaire dans les liquides de lavage nasal, numération différentielle leucocytaire dans le sang périphérique, oxyde d'azote exhalé).

Sundblad *et al.* (2004) ont mis en évidence uniquement des effets subjectifs : une augmentation significative des scores des effets subjectifs dès 5 ppm chez des volontaires exposés 3 h avec une alternance, toutes les 30 min, de repos et

d'azote exhalé) n'a été mis en évidence à la plus forte concentration de 25 ppm, considérée par le CES comme NOAEC.

Tableau 16 : Scores des symptômes notés par des volontaires exposés 3 heures à l'ammoniac (Sundblad *et al.*, 2004)

Question		Average increase in VAS rating during exposure (mm)		
		0 ppm	5 ppm	25 ppm
Q1	Eye discomfort: burning, irritated, or running eyes	-0.5	3.6 ^a	14.8 ^a
Q2	Nose discomfort: burning, irritated, or runny nose	-4.7	3.4	15.3 ^a
Q3	Throat or airway discomfort	-2.9	1.2	14.2 ^a
Q4	Breathing difficulty	-1.2	2.3	12.2 ^a
Q5	Solvent smell	0.2	38.1 ^a	61.8 ^a
Q6	Headache	-0.6	-0.2 ^b	6.2 ^a
Q7	Fatigue	-8.1	-5.7	2.5 ^b
Q8	Nausea	-0.5	3.6	14.8 ^a
Q9	Dizziness	0.1	0.6 ^b	4.4 ^a
Q10	Feeling of intoxication	0.3	0.9 ^b	4.2 ^b

^a Significantly different from 0 ppm in Wilcoxon signed rank test, $P < 0.01$.

^b Significantly different from 0 ppm in Wilcoxon signed rank test, $P < 0.05$.

Les études de Cole *et al.* (1977) et de Sundblad *et al.* (2004) ont été réalisées chez des volontaires en bonne santé exposés à l'ammoniac avec une alternance de périodes de repos et d'activité physique qui augmente la ventilation pulmonaire. Ces modalités d'exposition ne sont pas représentatives de l'exposition de la population générale.

distinction entre les pics d'exposition et les expositions plus étalées dans le temps. Cependant, il est communément admis que les effets irritants locaux seraient dépendants de la concentration plutôt que de la dose totale et/ou de la durée d'exposition. Ainsi, il n'est pas nécessaire de réaliser un ajustement temporel.

5.3.3 Ajustement allométrique

Aucun ajustement allométrique n'est nécessaire, l'étude clé étant réalisée chez l'Homme.

5.3.4 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir d'une NOAEC a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2015) :

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : 3

La majorité des études sur volontaires ont été réalisées sur de petits échantillons d'individus en bonne santé. Plusieurs études d'exposition humaine contrôlée n'ont pas mis en évidence de différence de sensibilité respiratoire à l'ammoniac entre des individus sains et des individus présentant une pathologie respiratoire (asthme, rhinite allergique saisonnière, individus atopiques) (MacLean *et al.*, 1979 ; Sigurdason *et al.*, 2004 ; Petrova *et al.*, 2008 ; Pachara *et al.*, 2017). Le NRC considère qu'il n'est pas attendu une réponse différente chez les asthmatiques par rapport aux non asthmatiques (NRC, 2007).

Deux études ont mis en évidence des irritations sensorielles plus importantes chez des volontaires naïfs (ne connaissant pas les effets de l'ammoniac ou non familiers avec l'odeur de l'ammoniac) par rapport à des volontaires non naïfs (Verberk, 1977 ; Ihrig *et al.*, 2006).

Cependant, malgré l'absence d'étude permettant la comparaison des effets de l'ammoniac au niveau respiratoire entre l'adulte et l'enfant, on peut supposer que les enfants peuvent être plus vulnérables aux agents corrosifs que les adultes en raison du diamètre plus petit de leurs voies aériennes (ATSDR, 2004 et 2014).

Ainsi, afin de prendre en compte la variabilité interindividuelle, la valeur de 3 est utilisée.

- Utilisation d'une BMCL, d'un LOAEC ou d'un NOAEC ($UF_{B/L}$) : 1
- Insuffisance des données (UF_D) : 1

Un facteur d'incertitude global de 3 est donc utilisé pour la construction de la VTR.

De plus, le CES attire l'attention sur le fait que la VTR aiguë ne protège pas des effets dus à d'éventuels pics d'exposition.

Effet critique Étude source	Dose critique	UF	VTR Niveau de confiance
Irritation respiratoire Sundblad <i>et al.</i> , 2004 supportée par Cole <i>et al.</i> , 1977	NOAEC = 25 ppm (17,7 mg.m ⁻³) <u>Pas d'ajustement temporel</u>	3 UF _H = 3	5,9 mg.m ⁻³ (8,3 ppm)

5.3.6 Niveau de confiance

Le niveau de confiance global a été attribué à cette VTR en se basant sur les critères suivants :

- Niveau de confiance dans la nature et la qualité des données : **fort**.

Les données toxicologiques sont suffisantes pour évaluer ce composé. De nombreuses études ont été réalisées chez l'Homme et l'animal.

- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action : **fort**

Les propriétés irritantes de l'ammoniac ont été largement étudiées chez l'Homme. En effet, l'ammoniac est un gaz provoquant des irritations sévères, voire des brûlures au niveau des muqueuses cutanée, oculaire et respiratoire en raison de ses propriétés alcalines. Sa forte solubilité dans l'eau lui permet de se dissoudre sur les muqueuses, la peau et les yeux, formant de l'ion ammonium NH₄⁺ et/ou de l'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH), qui provoque des brûlures des tissus et conduisant à une altération fonctionnelle respiratoire.

- Niveau de confiance dans choix de l'étude clé : **moyen**

L'étude de Sundblad *et al.* (2004), bien qu'étant réalisée chez 12 volontaires par inhalation en phase statique et pendant un exercice, met en évidence uniquement des effets subjectifs témoignant de sensations d'inconfort et d'irritation des yeux et voie respiratoire. Cette étude n'a pas mis en évidence d'effet objectif (spirométrie, hyperréactivité bronchique, concentration IL-6 et 8, composition cellulaire dans les liquides de lavage nasal, numération différentielle leucocytaire dans

6 Proposition de VTR chronique par voie respiratoire

6.1 Choix de l'effet critique

Suite à une exposition par inhalation, le système respiratoire constitue l'organe cible de l'ammoniac aussi bien chez l'Homme que chez l'animal. Des études transversales en milieu professionnel ont mis en évidence une toxicité respiratoire chez l'Homme, en particulier des modifications de la fonction pulmonaire et une augmentation de la prévalence des symptômes respiratoires. Ces études sont confortées par les études chez des travailleurs exposés à l'ammoniac en tant que produit désinfectant ou de nettoyage, en milieu agricole, les études d'exposition contrôlée et les études animales qui mettent également en évidence des effets sur l'appareil respiratoire.

Ainsi, le CES a décidé de retenir comme effet critique les effets respiratoires.

6.2 Analyse des VTR existantes

Les 4 VTR chroniques recensées pour l'ammoniac sont toutes fondées sur des effets respiratoires et sur la même étude clé : Holness *et al.* (1989) (étude épidémiologique en milieu professionnel). Les individus de cette étude ont rempli un questionnaire sur leur histoire professionnelle et leurs symptômes, et ont bénéficié d'une spirométrie en début et fin de poste. Aucune différence n'a été observée sur ces critères entre les deux groupes. Cette étude a été retenue car jugée de meilleure qualité que les autres études (prise en compte de facteurs de confusion appropriés, forte confiance dans les mesures d'exposition, faible potentiel de co-exposition à d'autres substances chimiques, évaluation des symptômes respiratoires et des paramètres de la fonction pulmonaire).

Les différences entre les VTR proposées reposent sur :

- Les études retenues comme étude support : L'OEHHA conforte les résultats de l'étude d'Holness *et al.* par les données issues d'une étude conduite chez le rat (Broderson *et al.*, 1976). Cette étude dispose d'un descriptif détaillé quant à son mode opératoire non standardisé. L'US EPA et le TCEQ ont retenu comme études support des études chez des travailleurs : Rahman *et al.* (2007), Ballal *et al.* (1998) et, uniquement pour l'US EPA, Ali *et al.* (2001). L'US EPA a retenu l'étude d'Holness *et al.* comme étude clé la jugeant de meilleure qualité que les autres études (prise en compte de facteurs de confusion appropriés, forte confiance dans les mesures d'exposition, faible potentiel de co-exposition à d'autres substances chimiques, évaluation des symptômes respiratoires et des paramètres de la fonction pulmonaire) et qu'elle a permis l'identification de la NOAEC la plus élevée par rapport aux autres études.

- L'ajustement temporel : l'ATSDR considère un ajustement journalier et horaire, alors que l'US EPA, le TCEQ et l'OEHHA considèrent un ajustement journalier et un ajustement respiratoire en considérant un volume respiratoire plus élevé au moment de l'activité professionnelle qu'au repos, ce qui a été considéré comme plus pertinent par le CES lorsqu'on part d'une étude en milieu professionnel ;
- L'application d'un facteur d'incertitude sur le manque de données : en plus du facteur d'incertitude interindividuelle de 10, l'ATSDR ajoute un facteur de 3 pour tenir compte du manque de données de reprotoxicité. L'US EPA a attribué un niveau de confiance moyen dans la base de données du fait de l'absence de donnée sur le développement et de données limitées de reprotoxicité et de toxicité chronique mais n'a pas jugé nécessaire d'appliquer un UF_D considérant que ce manque de données ne semblait pas impacter la valeur de la RfC. Le CES considère qu'il n'est pas nécessaire d'ajouter un facteur d'incertitude supplémentaire pour prendre en compte le manque de données ;
- La détermination de la concentration critique. L'OEHHA et l'ATSDR ont retenu comme NOAEC la concentration moyenne chez les travailleurs exposés tandis que le TCEQ et l'US EPA ont considéré la concentration du groupe le plus exposé (groupe d'exposition le plus élevé $\geq 8,8 \text{ mg.m}^{-3}$). Cette étude ne met pas en évidence de différence dans la prévalence des symptômes respiratoires ou de la fonction pulmonaire entre des travailleurs exposés et le groupe témoin. N'ayant pas pu calculer la moyenne d'exposition du groupe le plus exposé (pas accès aux données brutes), l'US EPA a modélisé l'exposition du groupe le plus exposé et a retenu comme dose critique la limite inférieure de l'intervalle de confiance de la concentration moyenne (NOAEC = $13,6 \text{ mg.m}^{-3}$). La modélisation réalisée par l'US EPA a été jugée de bonne qualité et pertinente.

Ainsi, le CES retient la VTR de l'US EPA malgré un facteur d'incertitude UF_H de 10, qui diffère de l' UF_H de 3 choisi par le CES pour la construction de la VTR aiguë. Le CES considère en effet que la variabilité inter-individuelle est plus élevée pour des expositions long terme que court terme.

6.3 Proposition de VTR chronique par voie respiratoire

$$\text{VTR} = 0,5 \text{ mg.m}^{-3}$$

Organisme (année)	Effet critique Étude source	Dose critique	UF	VTR
US EPA (2016)	Diminution de la fonction pulmonaire et augmentation des symptômes respiratoires (toux, respiration sifflante, autres symptômes liés à l'asthme) <i>Holness</i>			

6.4 Niveau de confiance

Le niveau de confiance global a été attribué à cette VTR en se basant sur les critères suivants :

- Niveau de confiance dans la nature et la qualité des données : **moyen**.

L'appareil respiratoire est la principale cible de la toxicité de l'ammoniac inhalé chez l'Homme. Cinq études transversales en milieux industriels (Rahman *et al.*, 2007 ; Ali *et al.*, 2001 ; Ballal *et al.*, 1998 ; Bhat et Ramaswamy, 1993 ; Holness *et al.*, 1989) ont étudié l'association entre l'ammoniac inhalé et la prévalence de symptômes respiratoires ou de modifications de la fonction pulmonaire mais les études présentent des limites. Le corpus de données est limité mais suffisant.

7 Proposition de VTR subchronique par voie respiratoire

7.1 Proposition de VTR subchronique

L'ATSDR n'a pas dérivé de MRL intermédiaire (ATSDR, 1999). L'ammoniac étant un gaz irritant et corrosif qui entraîne des effets au niveau du point d'entrée dans l'organisme et des irritations oculaires et du tractus respiratoire, l'ATSDR considère préférable d'utiliser des données humaines plutôt que des études animales. De plus, la seule étude disponible chez volontaires sains est celle de Ferguson *et al.* (1977) n'a pas été retenue à cause de la difficulté à déterminer une LOAEC/NOAEC, des différentes durées d'exposition et d'une incohérence entre les durées d

l'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH), qui provoque des brûlures des tissus et une altération de la fonction respiratoire.

- Niveau de confiance dans choix de l'étude clé : **moyen**.

Holness *et al.* (1989) est une étude épidémiologique en milieu professionnel. Les individus de cette étude ont rempli un questionnaire sur leur histoire professionnelle et leurs symptômes, et ont subi une spirométrie en début et fin de poste. Aucune différence n'a été déterminée sur ces critères entre les deux groupes. Cette étude a été retenue car jugée de meilleure qualité que les autres études.

- Niveau de confiance dans le choix de la dose critique : **moyen**.

L'US EPA a considéré la limite inférieure de l'

8 Conclusions du CES

Des VTR aiguë, subchronique et chronique par voie inhalation sont proposées pour l'ammoniac basé sur des effets sur la fonction respiratoire (

Tableau 17). Le CES attire l'attention sur le fait que la VTR aiguë ne protège pas des effets dus à d'éventuels pics d'exposition.

Le nature de la VTR (aiguë, subchronique, chronique) est déterminée en partie par la durée d'exposition des études toxicologiques mais également des besoins en évaluation de risques sanitaires.

Pour rappel, dans le cadre des VTR et en lien avec les scénarios généralement pris en compte en évaluation des risques sanitaires chez l'Homme, l'Anses distingue trois types de durée d'exposition :

Tableau 17 : VTR par voie respiratoire pour l'ammoniac

Type de VTR	Organisme	Effet critique (étude clé)	Concentration critique	UF	VTR
VTR aiguë	Anses	Irritation respiratoire Sundblad <i>et al.</i> , 2004 supportée par Cole <i>et al.</i> , 1977	NOAEC = 25 ppm (17,7 mg.m ⁻³) <u>Pas d'ajustement temporel</u>	3 UF _H	

9 Bibliographie

Date de fin de la bibliographie : 10/08/2017

- Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (Afsset). (2007). Valeurs guides de

- Ferguson WS, Koch WC, Webster LB, Gould JR. (1977) Human physiological response and adaption to ammonia. J Occup Med. 1977 May;19(5):319-26.
- Holness D.L., Purdham J.T., Nethercott J.R. (1989) Acute and chronic respiratory effects of occupational exposure to ammonia. Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 50: 646-650.</

- OEHHA. (1999b) Ammonia. P19-23. Appendix D.3 Chronic RELs and toxicity summaries using the previous version of the Hot Spots Risk Assessment guidelines (OEHHA 1999). Disponible sur <https://oehha.ca.gov/media/downloads/crn/appendixd3final.pdf>
- Pacharra M, Kleinbeck S, Schäper M, Blaszkewicz M, van Thriel C. (2016) Multidimensional assessment of self-reported chemical intolerance and its impact on chemosensory effects during ammonia exposure. *Int Arch Occup Environ Health*. 2016 Aug;89(6):947-59.
- Pacharra M, Kleinbeck S, Schäper M, Blaszkewicz M, Golka K, van Thriel C. (2017) Does seasonal allergic rhinitis increase sensitivity to ammonia exposure? *Int J Hyg Environ Health*. 2017 Jul;220(5):840-848.
- Pauluhn J. (2013) Acute inhalation toxicity of ammonia: revisiting the importance of RD50 and LCT01/50 relationships for setting emergency response guideline values. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2013 Aug;66(3):315-25.
- Perkins MW, Wong B, Tressler J, Coggins A, Rodriguez A, Devorak J, Sciuto AM. (2016) Assessment of inhaled acute ammonia-induced lung injury in rats. *Inhal Toxicol*. 2016;28(2):71-9.
- Petrova M, Diamond J, Schuster B, Dalton P. (2008) Evaluation of trigeminal sensitivity to ammonia in asthmatics and healthy human volunteers. *Inhal Toxicol*. 2008 Sep;20(12):1085-92.
- Rahman MH, Bråtveit M, Moen BE. (2007) Exposure to ammonia and acute respiratory effects in a urea fertilizer factory. *Int J Occup Environ Health*. 2007 Apr-Jun;13(2):153-9.
- Sigurdarson ST, O'Shaughnessy PT, Watt JA, Kline JN. (2004) Experimental human exposure to inhaled grain dust and ammonia: towards a model of concentrated animal feeding operations. *Am J Ind Med*. 2004 Oct;46(4):345-8.
- Silverman L, Whittenberger JL, Muller J. (1949) Physiological response of man to ammonia in low concentrations. *J Ind Hyg Toxicol* 1949;31:74-78.
- Smeets MA, Bulting PJ, van Rooden S, Steinmann R, de Ru JA, Ogink NW, van Thriel C, Dalton PH. (2007) Odor and irritation thresholds for ammonia: a comparison between static and dynamic olfactometry. *Chem Senses*. 2007 Jan;32(1):11-20.
- Sundblad BM, Larsson BM, Acevedo F, Ernstgård L, Johanson G, Larsson K, Palmberg L. (2004) Acute respiratory effects of exposure to ammonia on healthy persons. *Scand J Work Environ Health*. 2004 Aug;30(4):313-21.
- TCEQ (Texas Commission on Environmental Quality) (2015) Ammonia. 39p. Disponible sur <http://www.tceq.com/assets/public/implementation/tox/dsd/final/ammonia.pdf>
- van Thriel C, Schäper M, Kiesswetter E, Kleinbeck S, Juran S, Blaszkewicz M, Fricke HH, Altmann L, Berresheim H, Brüning T. (2006) From chemosensory thresholds to whole body exposures-experimental approaches evaluating chemosensory effects of chemicals. *Int Arch Occup Environ Health*. 2006 Apr;79(4):308-21.
- Verberk M. (1977) Effects of ammonia in volunteers. *Int Arch Occup Health* 1977;39:73-81.

- Wise PM, Canty TM, Wysocki CJ. (2005) Temporal integration of nasal irritation from ammonia at threshold and supra-threshold levels. Toxicol Sci. 2005 Sep;87(1):223-31
- US EPA (2016) Toxicological Review of Ammonia. Noncancer Inhalation [CASRN 7664-41-7]. EPA/635/R-16/163Fa et b. September 2016. Disponible sur https://cfpub.epa.gov/ncea/iris2/chemicalLanding.cfm?substance_nmbr=422

ANNEXES

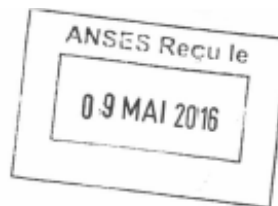
Annexe 1 : Lettre de saisine

2016 -SA- 0 1 1 6

2016 -SA- 0 1 1 7

2016 -SA- 0 1 1 8

2016 -SA- 0 1 1 9



MINISTÈRE DES AFFAIRES SOCIALES ET DE LA SANTÉ

Direction générale de la santé

Sous-direction de la prévention des risques
liés à l'environnement et à l'alimentation
Bureau de l'environnement extérieur et des produits chimiques
DGS/EA1 n° 56

Personne chargée du dossier :

Stéphanie LOYER
Tel : 01 40 56 76 06
Mél : stephanie.loyer@sante.gouv.fr

Paris, le 18 MAR 2016

Le Directeur général de la santé

à

Madame la Directrice générale
suppléante de l'Agence nationale de
sécurité sanitaire de l'alimentation, de
l'environnement et du travail

Objet : Saisine relative à la sélection ou à l'élaboration des valeurs toxicologiques de référence (VTR) pour le Trichloroéthylène (TCE), le Perchloroéthylène (PCE), l'Ammoniac et quatre Chloro-aniline.

Dans le cadre des évaluations de risques réalisées dans le traitement des dossiers relatifs aux Installations classées pour la protection de l'environnement (ICPE) ou à la gestion de sites et sols pollués, les ARS ou les bureaux d'étude interrogent régulièrement la DGS sur le choix des VTR de certaines substances. Ce choix s'effectue au regard de la note d'information N° DGS/EA1/DGPR/2014/307 du 31 octobre 2014 relative aux modalités de sélection des substances chimiques et de choix des valeurs toxicologiques de référence pour mener les évaluations des risques sanitaires dans le cadre des études d'impact et de la gestion des sites et sols pollués.

Dans cette note, l'Anses est désignée comme agence d'expertise pour le choix et la construction des VTR. Ainsi l'Anses peut être saisie pour la construction de VTR en cas d'absence de VTR pour certaines substances, comme par exemple pour les chloroanilines, en cas de remise en question des VTR existantes par l'agence, comme par exemple pour le TCE et le PCE, ou encore lorsque le choix entre plusieurs VTR existantes pose des difficultés. En effet, dans la gestion de certains dossiers, le choix de la VTR peut s'avérer crucial pour l'évaluation des risques, et faire basculer le risque d'acceptable à inacceptable.

Cette situation s'est présentée à deux reprises dans le cadre de dossiers de demande d'autorisation d'exploiter d'ICPE rejetant de l'ammoniac.

Ainsi, au regard des enjeux d'évaluation et de gestion des risques liés à la sélection des VTR, je vous demande de bien vouloir procéder successivement :

- à la réalisation d'une revue critique de la littérature afin de sélectionner, parmi les VTR existantes pour les substances listées dans le tableau ci-dessous, celle dont vous validez la construction ;
- à la construction de VTR aiguës, subchroniques et chroniques, à seuil et sans seuil, par inhalation pour les substances pour lesquelles l'étape précédente n'a pas conduit à la sélection d'une VTR déjà existante pour cette voie d'exposition.

Ces deux étapes devront être réalisées sur les substances suivantes, par ordre de priorité :

Priorité	Substances	Numéro CAS
1	TCE	79-01-6
2	PCE	127-18-4
3	Ammoniac	7664-41-7
4	4-chloroaniline	106-47-8
5	3- chloroaniline	108-42-9
6	2-chloroaniline	95-51-2
7	2.5-dichloroaniline	95-82-9

Concernant les quatre chloroaniline, lors de la revue bibliographique, vous analyserez également la pertinence de sélectionner une substance traceuse du risque. Selon les résultats de cette analyse, vous procéderez à la sélection ou la construction d'une VTR pour cette substance traceuse ou d'autant de VTR que nécessaire pour une analyse complète du risque.

Je vous remercie de bien vouloir me transmettre, dans les meilleurs délais, votre proposition de contrat d'expertise comprenant notamment les modalités de traitement et de restitution des travaux, dont les résultats pour le TCE sont attendus pour septembre 2016 au plus tard et le rendu final pour mars 2017 au plus tard.

Le Directeur Général de la Santé,

Professeur Benoît VALLET

Copies : DGPR, InVS

Notes



Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
14 rue Pierre et Marie Curie
94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr / [@Anses_fr](https://twitter.com/Anses_fr)