

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 7 août 2015

NOTE
d'appui scientifique et technique
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,
de l'environnement et du travail

relative à l'évaluation des risques sanitaires associés au trinitroglycérol
dans l'eau destinée à la consommation humaine.

L'Anses a été saisie le 8 juillet 2015 par la Direction générale de la santé (DGS) pour la réalisation de l'appui scientifique et technique suivant : « demande d'évaluation des risques sanitaires chez l'Homme associés à la nitroglycérine (ou trinitroglycérol) dans l'eau destinée à la consommation humaine ».

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA DEMANDE

Un incendie d'un entrepôt de l'entreprise Roxel située à Saint-Médard-en-Jalles près de Bordeaux a eu lieu dans la nuit du 5 au 6 juillet 2015. Cet entrepôt contenait des galettes de nitrocellulose et de nitroglycérine qui ont, au moins partiellement, brûlé.

Les pompiers ont éteint l'incendie avec de l'eau qui était ensuite rejetée dans la Jalle jusqu'au 8 juillet 2015. Le débit de la rivière est compris entre 4 300 et 5 500 m³/h. L'industriel a réalisé deux prélèvements d'eau le 6 juillet 2015, l'un au droit du site de rejet dans la rivière, l'autre en un point situé sur la Jalle en aval du site de rejet. Les analyses de la nitroglycérine ont été réalisées par un laboratoire situé en Allemagne. Les concentrations étaient de 123 mg/L dans le premier prélèvement et de 13 mg/L dans le prélèvement en aval.

Les captages servant à produire de l'eau destinée à la consommation humaine (EDCH) situés au voisinage du site de rejet dans la rivière étaient en arrêt en raison de la contamination de la ressource par des ions perchlorate.

Deux captages ont été fermés spécifiquement du fait des suites de l'incendie sur le site industriel Roxel : Cantinolle et Bussac.

Ces deux captages d'eau souterraine fournissent habituellement 2 000 m³/j pour l'alimentation de Bordeaux métropole et drainent la partie superficielle de la nappe oligocène, qui est la nappe la plus superficielle, donc en équilibre avec les cours d'eau superficiels appelés « les Jalles ». Si globalement, les Jalles drainent la nappe oligocène, c'est-à-dire que le sens d'écoulement va des eaux souterraines vers la rivière, le sommet des formations oligocènes renferme une eau qui contient parfois des concentrations élevées en ions nitrate, démontrant un possible passage des eaux superficielles vers la nappe (Saltel M., BRGM).

La station de potabilisation des eaux est constituée schématiquement d'une étape de clarification (coagulation / floculation avec un réactif à base d'aluminium et des filtres à sable), d'un filtre à charbon actif en grains et d'une désinfection par des rayonnements ultra-violets suivie d'une désinfection au chlore gazeux.

Par ailleurs, en raison des pollutions récentes qui ont touché le cours d'eau, la baignade et la pêche sont interdites en permanence le long de la Jalle par arrêté du maire de Saint-Médard-en-Jalles en date du 13 juillet 2015. Les eaux de la Jalle sont utilisées pour l'irrigation d'une zone maraîchère à visée commerciale et ponctuellement pour l'arrosage de jardins de particuliers.

L'objet du présent avis est d'évaluer les risques sanitaires associés à la nitroglycérine (ou trinitroglycérol) dans l'EDCH.

2. ORGANISATION DES TRAVAUX

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'Anses a mandaté, pour cette instruction, le groupe de travail « Évaluation des risques sanitaires associés aux paramètres chimiques des eaux destinées à la consommation humaine » et d'autres experts (*cf.* noms des experts sollicités cités en annexe).

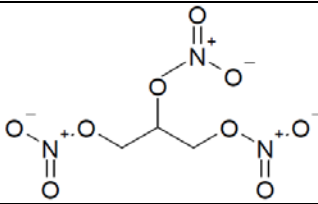
3. ANALYSE ET CONCLUSIONS

3.1. Propriétés physico-chimiques du trinitroglycérol

La nitroglycérine ou trinitroglycérol est un ester de nitrate aliphatique présentant des propriétés explosives. Dans la suite du document, cette molécule sera désignée par l'abréviation TNG.

Le tableau I présente l'identité et les principales propriétés physico-chimiques du TNG.

Tableau I : Identité et principales propriétés physico-chimiques du trinitroglycérol

		Références
Numéro CAS	55-63-0	
Noms usuels	Trinitrate de 1,2,3-propanetriol Trinitrate de glycéryle Nitroglycérine Trinitrine Trinitroglycérol (TNG)	
Poids moléculaire	227,09 g/mol	Roberts et Hartley, 1992 ; SRC, 2015
Formule brute	C ₃ H ₅ (NO ₃) ₃	
Formule développée		
État physique	Jaune pâle, liquide visqueux	Roberts et Hartley, 1992
Point de fusion	13,5°C / 2,8°C (forme labile)	Roberts et Hartley, 1992
Point d'ébullition	Ebullition et décomposition rapide au-dessus de 145°C. Explose à 256°C.	Roberts et Hartley, 1992
Pression de vapeur	2,7 x 10 ⁻⁴ mmHg à 20°C 4.10 ⁻⁴ mmHg à 25°C	Roberts et Hartley, 1992 ; SRC, 2015
Constante de Henry	8,66.10 ⁻⁸ atm-m ³ /mol à 25 °C	SRC, 2015
Solubilité dans l'eau	1,38 - 2,0 g/L à 20°C 1,25 g/L à 25°C	Roberts et Hartley, 1992 ; SRC, 2015
log K _{ow}	2,04 1,62	Hansch <i>et al.</i> , 1995, cités par SRC, 2015
Koc	180 (modélisation à partir d'un log K _{ow} de 1,62)	HSDB, 2005

Le TNG est donc une molécule très polaire et très soluble dans l'eau.

3.2. Devenir et comportement du TNG dans le milieu aquatique

Un coefficient de partage carbone organique/eau (Koc) de 180 (HSDB, 2005), estimé à partir du log K_{ow} de 1,62 du TNG (Tableau I), indique une mobilité modérée dans le sol et une adsorption sur les matières en suspension et les sédiments (HSDB, 2005).

Sur la base de sa constante de Henry et de sa solubilité dans l'eau (Tableau I), sa volatilisation à partir des eaux de surfaces ne devrait pas survenir (HSDB, 2005).

Un facteur de bioconcentration (BCF) de 4 (HSDB, 2005) estimé à partir du log K_{ow} de 1,62 du TNG suggère un faible potentiel de bioconcentration chez les organismes aquatiques.

En conditions alcalines, l'hydrolyse est un processus important de dégradation du TNG dans l'environnement avec, à pH 9, des temps de demi-vie de 37 jours à 25°C et de 96 jours à 18°C (Capellos *et al.*, 1984). Toutefois, à pH neutre, une demi-vie d'hydrolyse de 10 ans a été décrite.

Le TNG absorbe faiblement les longueurs d'onde supérieures à λ=290 nm et subit lentement la photolyse (Spanggard *et al.*, 1980). Les temps de demi-vie du TNG (concentration initiale de 5,8 ppm) exposé aux rayons du soleil étaient de 116 jours dans de l'eau distillée, de 57 jours dans de l'eau de rivière filtrée et de 73 jours dans de l'eau d'étang filtrée (Spanggard *et al.*, 1980).

La nitroglycérine a été complètement biodégradée en 13 jours en utilisant des microcosmes d'eaux et de sédiments prélevés dans une rivière près d'une usine de munitions en Virginie (concentration initiale en TNG : 10 ppm) (Spanggard *et al.*, 1980).

Le TNG, comme d'autres esters aliphatiques de l'acide nitrique, est facilement biodégradable en conditions aérobies par élimination successive des groupes nitrés. Des essais en flacons agités, effectués à 30°C avec un inoculum de boues activées, ont montré une dégradation de 53,6 % du TNG en 5 jours. Lors d'un essai en continu en laboratoire avec des boues activées à température ambiante avec un temps de séjour de 84 h, une diminution moyenne de 92,2 % du TNG a été observée. Le 1,3-dinitroglycérol et le 1,2-dinitroglycérol ont été identifiés comme des intermédiaires de dégradation (Wendt *et al.*, 1978). Dans un système expérimental de culture aérobie en continu sans recyclage des matières solides, conçu pour simuler une installation où des déchets de propulseur seraient traités, aucun des esters de nitrate n'était détectable dans l'effluent après un temps de séjour de 5 à 8 h.

Une minéralisation complète du TNG (concentration initiale de 350 µmol/L) a été atteinte en 4 jours en utilisant des cultures mixtes et un digesteur en conditions anaérobies, utilisant des boues provenant d'une usine de traitement des eaux usées municipales enrichie avec 2 000 mg/L de glucose. Sans apport de glucose, la minéralisation complète du TNG a pris environ 25 jours dans le digesteur (Christodoulatos *et al.*, 1997).

Une concentration de 16 mg/L de TNG a été rapidement dégradée dans un réacteur biologique séquentiel utilisant une liqueur mixte de station d'épuration industrielle et de station de traitement des eaux usées domestiques. Le 1,2-dinitroglycérol et le 1,3-dinitroglycérol sont identifiés comme produits de dégradation initiaux (Accashian *et al.*, 2000).

Bhaumik *et al.* (1997) ont étudié la biodégradation de la nitroglycérine en conditions aérobies et anaérobies. En conditions anaérobies en digesteur, avec une concentration initiale en TNG de 700 µM, l'élimination complète des trois groupements nitrate du TNG est obtenue après 7 jours, la dégradation complète du 1,2-dinitroglycérol est obtenue après 18 jours et celle du 1,3-dinitroglycérol après 27 jours. Les isomères mono nitrate sont complètement dénitrés après 45 jours conduisant vraisemblablement au glycérol.

En conditions aérobies, en utilisant des cultures mixtes avec une concentration initiale en TNG de 400 µM, le produit est complètement transformé en 6 jours, conduisant à la formation de 1,3-dinitroglycérol et de 1,2-dinitroglycérol en concentration élevée (200 µM) après 4 jours, ces composés étant ensuite transformés en 1-mononitroglycérol et 2-mononitroglycérol stables pendant plus de 30 jours. Les isomères mononitrés sont complètement dénitrés après 42 jours.

3.3. Traitement de l'eau destinée à la consommation humaine

La molécule de TNG étant très polaire et très soluble dans l'eau, elle ne semble pas facilement éliminable de l'eau par les procédés classiques de traitement de l'EDCH.

La clarification physico-chimique doit avoir une efficacité très faible vu la grande solubilité du composé, en particulier si celui-ci a été introduit dans l'eau sous forme de sels solubles.

Du fait d'un log du coefficient de partage octanol / eau proche de 2, la filtration sur charbon actif en grains (CAG) pourrait présenter une légère efficacité pour diminuer les concentrations en TNG. Néanmoins, la capacité d'adsorption du CAG est limitée et si les concentrations dans l'eau sont très élevées (*cf.* concentration de 13 mg/L issue du prélèvement réalisé dans la Jalle par la société Roxel), le charbon sera très rapidement saturé. L'utilisation de charbon actif en poudre (CAP) est à privilégier mais *a priori* avec des concentrations relativement élevées (10 mg/L minimum). Des isothermes d'adsorption doivent être réalisés afin de connaître le taux de traitement optimum à appliquer.

Aucune donnée n'est disponible sur l'action des oxydants (chlore et ozone notamment) sur la molécule.

Le TNG n'absorbant que très faiblement à des longueurs d'onde supérieures à $\lambda=240$ nm (Bordeleau *et al.*, 2013), les rayonnements ultraviolets utilisés dans le traitement de l'eau ne devraient donc avoir qu'une faible action sur la molécule.

3.4. Méthodes d'analyse dans les eaux destinées à la consommation humaine

La norme AFNOR NF EN 22748, datée de juin 2006, décrit le dosage dans les eaux de certains explosifs, dont la nitroglycérine, par chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) avec détection dans l'UV.

Cette norme inclut une vingtaine de molécules, notamment les nitrotoluènes, les nitro-amines et les nitro-esters, ainsi que des sous-produits et produits de dégradation apparentés, avec des limites de quantification (LQ) de l'ordre de 0,5 $\mu\text{g/L}$.

L'US EPA décrit également une méthode pour le dosage de la nitroglycérine dans les eaux par HPLC-UV (méthode 8332) sans préciser les niveaux de performances attendus (US EPA, 1996).

Aucun laboratoire n'est accrédité par le Cofrac à ce jour pour le dosage de cette molécule. Quelques laboratoires français proposent néanmoins le dosage de cette molécule hors accréditation.

3.4.1. Conservation des échantillons

Les échantillons doivent être prélevés dans des flacons en verre brun, conservés à 4°C jusqu'au moment de l'analyse qui doit être réalisée dans les 3 jours suivant le prélèvement, la molécule étant biodégradable.

3.4.2. Performances

Les LQ attendues après extraction Liquide/Liquide puis analyse par couplage CG-SM ou après extraction en phase solide (SPE) et analyse par couplage CLHP-UV ou SM/SM sont inférieures à 1 $\mu\text{g/L}$, avec des incertitudes intra-laboratoires de l'ordre de 30 %, variables en fonction du niveau de concentration.

3.4.3. Interférences

Les interférences rencontrées dépendent de la méthode mise en œuvre. Elles sont principalement liées à un défaut de spécificité du mode de détection (coélution, etc.) ou à des produits de dégradation des échantillons. Le contrôle qualité interne du laboratoire et une prise en charge rapide des échantillons permettent généralement de s'affranchir de ces difficultés.

3.5. Effets sur la santé

Les données disponibles sur les effets du TNG chez l'Homme sont essentiellement issues de son utilisation en thérapeutique.

3.5.1. Utilisation en thérapeutique

Le TNG est prescrit sous le nom de trinitrine, principalement sous la forme de :

- dispositif transdermique pour le traitement préventif de la crise d'angine de poitrine (angor) avec une posologie de 5 à 15 mg/24 h (soit de 0,2 à 0,6 mg/h) (Ansm, 2007) ;
- solution de trinitrine administrée par voie sublinguale (pilule enrobée ou solution pour pulvérisation buccale) pour le traitement curatif ou préventif à très court terme de la crise d'angor avec une posologie de 0,15 mg à renouveler jusqu'à 0,6 mg avec un intervalle de 2 à 3 minutes entre chaque prise, si la crise persiste (Ansm, 2011b) ;

- solution pour perfusion pour la prévention de l'ischémie myocardique lors des interventions coronaires, de l'insuffisance ventriculaire gauche, en particulier lors de la phase aiguë de l'infarctus du myocarde ou de l'angor instable avec une posologie qui varie de 5 à 200 µg/min dans la plupart des cas (Ansm, 2011a).

3.5.1.1. Propriétés pharmacodynamiques (Ansm, 2011b; Ansm, 2011a)

Les dérivés nitrés sont des donneurs de monoxyde d'azote (NO). Le NO, en stimulant la formation de guanosine monophosphate (GMP) cyclique, conduit à une relaxation des fibres musculaires lisses vasculaires, entraînant une vasodilatation.

La vasodilatation du système veineux augmente la capacité veineuse et diminue le retour veineux vers le cœur. La pression et le volume de remplissage ventriculaire diminuent (diminution de la pré-charge). Une diminution de la fonction ventriculaire et une chute de la pression artérielle systolique entraînent respectivement une diminution du besoin en énergie et en oxygène du myocarde au repos comme à l'effort.

La diminution de la pression de remplissage du cœur améliore l'irrigation sanguine des zones ischémiques du tissu sous-endocardique. Au total, ces effets entraînent une diminution du besoin en oxygène et une augmentation de la distribution d'oxygène diminuant ainsi les douleurs de l'angine de poitrine.

La dilatation des artères importantes du péricarde entraîne une diminution de la résistance à l'éjection systémique (diminution de la post-charge) et pulmonaire.

3.5.1.2. Propriétés pharmacocinétiques (Ansm, 2007 ; Ansm, 2011a)

La trinitrine est totalement absorbée dans les intestins et métabolisée par le foie. Le volume de distribution fictif est d'environ 200 L chez l'adulte de sexe masculin. La liaison aux hématies est élevée et, de ce fait, une accumulation dans la paroi vasculaire peut survenir. Il existe une importante variabilité interindividuelle de la biodisponibilité, d'environ 39 %. Aux concentrations plasmatiques entre 50 et 500 ng/mL, la liaison de la trinitrine aux protéines plasmatiques est d'environ 60 % ; celle de la 1,2-ditritrine et 1,3-ditritrine de 60 % et de 30 % respectivement. La trinitrine possède une demi-vie courte comprise entre 2,5 et 4,4 minutes.

Les principaux métabolites sont des dérivés dinitrés (1,3 et 1,2) et mononitrés. Ces métabolites sont éliminés partiellement sous forme de dérivés glucuronocconjugués. L'élimination des métabolites est rénale. L'activité et la demi-vie des métabolites de la trinitrine ne sont pas bien caractérisées. Le mononitrate n'est pas actif.

3.5.1.3. Mécanismes d'action des dérivés nitrés

Les dérivés nitrés sont des donneurs de monoxyde d'azote (NO). Ses actions s'ajoutent à celle de la production de NO par l'endothélium vasculaire qui par diffusion va agir sur les cellules musculaires. Le NO des cellules endothéliales stimule la production de GMPcyclique et par activation de la protéine-kinase GMPc dépendante conduit à la relaxation des fibres musculaires vasculaires par diminution de la concentration en calcium cytosolique (Lincoln *et al.*, 2001). Il existe une synthèse endogène de NO à partir de la L-arginine par différentes enzymes : les NO-synthases. Ces dernières sont constitutives mais aussi inductibles permettant des variations du NO. Le NO en plus de son action vasodilatatrice participant à l'homéostasie vasculaire représente un processus physiologique de neurotransmission et d'inhibition d'agrégation et/ou de l'adhésion plaquettaire par diffusion vers le lumen du vaisseau sanguin et ainsi contribue au maintien de la fluidité sanguine. Cette dernière action est locale, de plus il est rapidement capté par l'hémoglobine des érythrocytes et inactivé par des radicaux oxygénés (anion superoxyde,...). Des effets cytotoxiques du NO ont été attribués aux peroxy-nitrites résultant de l'interaction du NO avec l'ion superoxyde. Enfin une S-nitrosation des résidus cystéine des protéines a été décrit comme un mécanisme régulateur de plusieurs récepteurs, enzymes, transporteurs membranaires et facteurs de transcription dans la signalisation du NO. La S-nitrosation représente une forme de stockage du NO dans les vaisseaux (Alencar *et al.*, 2003).

3.5.1.4. Effets indésirables (Ansm, 2007 ; Ansm, 2011b ; Ansm, 2011a)

Les résumés de caractéristiques du produit (RCP) des spécialités pharmaceutiques contenant du TNG recensent les effets indésirables suivant :

- Céphalées dose-dépendantes ;
- Hypotension artérielle, parfois orthostatique, qui peut être associées à une tachycardie réflexe et s'accompagner de sensations vertigineuses, de lipothymies, ou exceptionnellement de syncopes ;
- Vasodilatation cutanée avec érythème et bouffées de chaleur ;
- Troubles digestifs (nausées, vomissements).

Ces effets indésirables s'expliquent par l'action pléiotrope¹ des voies de signalisation du monoxyde d'azote (NO) neuronales et vasculaires.

3.5.2. Toxicité aiguë

Lee *et al.* (1975) évaluent les DL₅₀ :

- Chez le rat : de 700 à 953 mg/kg (mâle) et de 763 à 1055 mg/kg (femelle)
- Chez la souris : de 1008 à 1352 mg /kg (mâle) et de 895 à 1178 mg/kg (femelle)

3.5.3. Effets sur le long terme

3.5.3.1. Étude chez le rat (Ellis *et al.*, 1978)

Des rats albinos Charles River CD (38 animaux / dose / sexe) ont reçu pendant deux ans des doses de TNG *via* l'alimentation de 0 ; 0,01 ; 0,1 ou 1 %, soit des apports journaliers moyens de 0 ; 3,04 ; 31,5 ou 363 mg/kg/j pour les mâles et de 0 ; 3,99 ; 38,1 ou 434 mg/kg/j pour les femelles (Ellis *et al.*, 1978a).

Aucun effet dose-dépendant sur la mortalité n'a été constaté. Plusieurs paramètres toxicologiques incluant des paramètres hématologiques et biochimiques et l'histopathologie ont été évalués. Aux plus faibles doses et aux doses intermédiaires, une augmentation de l'incidence de foyers d'altération hépatocellulaire a été décrite. Une augmentation dose-dépendante de l'incidence des carcinomes hépatocellulaires a été observée chez les mâles et les femelles aux dose moyennes et élevées d'exposition, et les incidences de foyers d'altération hépatocellulaire étaient approximativement deux fois supérieures chez les mâles (à toutes des doses testées) comparativement aux témoins. Par ailleurs, les mâles et les femelles exposés à la plus forte dose présentaient des incidences en augmentation d'effets hépatiques incluant une hyperplasie des canaux biliaires, une cholangiofibrose et des nodules néoplasiques. Une augmentation du poids relatif et absolu du foie chez les mâles et les femelles exposés à la plus forte dose a été rapportée. Une pigmentation de la rate et des reins a été observée principalement aux doses élevées. Les auteurs la mettent en relation avec une dégradation de l'hémoglobine suite à la méthémoglobinémie. Chez les mâles, une augmentation des tumeurs des cellules interstitielles des testicules a été observée aux doses élevées. Une augmentation de l'incidence de fibromes mammaires a été observée chez les femelles exposées à la dose intermédiaire. Le taux de méthémoglobine était significativement élevé (jusqu'à 30% de l'hémoglobine totale) pour les mâles et les femelles exposés aux plus fortes doses à la fin du 3^{ème} mois, un retour à la normale s'effectuant après 12 mois d'exposition.

L'US EPA (2010) a fixé :

- une DMENO² chez les mâles de 3,04 mg/kg p.c./j sur la base des modifications histopathologiques du foie et des reins ;

¹ Dans ce contexte, la pléiotropie est la propriété d'une molécule qui est impliquée dans de nombreux processus physiologiques.

² DMENO : dose minimale avec effet nocif observé (synonyme : LOAEL pour *lowest observed adverse effect level*)

- une DMENO chez les femelles de 38,1 mg/kg p.c./j sur la base de modifications histopathologiques du foie (dont des carcinomes hépatocellulaires), de la rate et des glandes mammaires ;
- une DSENO³ chez les femelles de 3,99 mg/kg p.c./j

3.5.3.2. Étude chez la souris (Ellis *et al.*, 1978)

Des souris CD-1 (58 animaux / dose / sexe) ont reçu pendant deux ans des doses de TNG *via* l'alimentation de 0 ; 11,1 ; 115 ou 1020 mg/kg/j pour les mâles et de 0 ; 9,7 ; 96 ou 1060 mg/kg/j pour les femelles (Ellis *et al.*, 1978a).

Les souris femelles exposées à la plus forte dose présentaient une masse corporelle significativement plus faible que les témoins après 12 ou 24 mois d'exposition. Les niveaux de méthémoglobine étaient plus élevés (2,8%) chez les souris mâles exposées à la dose la plus forte après 12 mois d'exposition. Des conséquences de la méthémoglobinémie (présence de corps de Heinz, anémie et dépôts pigmentaires) ont été décrites pour la plus forte dose chez les mâles et les femelles après un an d'exposition.

Pendant les 12-13 premiers mois d'exposition, une plus forte incidence de dépôts pigmentaires a été observée dans le foie des souris mâles à la plus forte dose d'exposition. La rate a été le premier organe pour lequel un dépôt pigmentaire a été observé durant les deux années d'exposition à la plus forte dose (5/5 mâles et 5/7 femelles). Un pigment brun et granulaire, qui n'a pas été identifié comme étant de l'hémosidérine, a été observé dans plusieurs organes ou cellules. Chez les animaux morts en cours d'expérimentation, la pigmentation était à un niveau élevé dans le foie des mâles et des femelles exposés à la plus faible dose. La fréquence et la sévérité des dysplasies hépatocellulaires ont été jugées comparables à celles observées dans le groupe témoin.

L'US EPA (2010) a fixé :

- une DMENO chez les mâles de 114,6 mg/kg p.c./j sur la base de la méthémoglobinémie ;
- une DSENO chez les mâles de 11,1 mg/kg p.c./j ;
- une DMENO chez les femelles de 9,72 mg/kg p.c./j sur la base de la diminution de la survie.

3.5.3.3. Étude chez le chien (Ellis *et al.*, 1978)

Des chiens Beagle mâles et femelles (nombre d'animaux non précisé) ont été exposés par voie orale à des capsules contenant du TNG à des doses de 0 ; 1 ; 5 ou 25 mg/kg p.c./j pendant un an.

Une méthémoglobinémie a été observée du 6^e au 9^e mois d'exposition dans tous les groupes, y compris les groupes témoins, et les concentrations en méthémoglobine revenaient au niveau de base au 12^e mois d'exposition. Ainsi, cette augmentation transitoire des concentrations en méthémoglobine n'était pas dépendante de la dose testée et était d'un niveau comparable à celle des témoins.

L'US EPA (2010) fixe une DSENO de 25 mg/kg p.c./j (plus forte dose de l'étude) pour les mâles et les femelles.

3.5.4. Effets sur la reproduction

Dans une étude sur trois générations chez des rats albinos (10 mâles et 20 femelles / dose pour la génération F0), du TNG a été administré *via* l'alimentation à des doses de 0 ; 0,01 ; 0,1 ou 1 % (soit des doses équivalentes de 0 ; 3,6 ; 39 et 408 mg/kg p.c./j pour les mâles et de 0 ; 5,0 ; 46 et 452 mg/kg p.c./j pour les femelles) (Ellis *et al.*, 1978).

Les femelles étaient exposées durant la gestation et entre les périodes d'accouplement, et les mâles étaient exposés jusqu'à l'arrivée de la génération suivante. Les caractéristiques des portées (taille de la portée, nombre d'animaux des portées vivants sur nombres total d'animaux de la portée, poids à la naissance, indice de viabilité, indice de lactation et poids au sevrage) étaient tous réduits à la génération

³ DSENO : dose sans effet nocif observé (synonyme : NOAEL pour *no observed adverse effect level*)

F_{1a} pour la plus forte dose d'exposition. Les juvéniles étaient mis à part et les animaux de la génération F0 sont accouplés pour conduire à la génération F1b. Pour produire la génération F2, 20 à 24 juvéniles (F1b) sont accouplés.

La même démarche a été appliquée avec le groupe F2. Une aspermatogenèse sévère induisant une infertilité a été observée chez les rats mâles de la génération F2 les plus exposés. Les testicules de ces animaux étaient environ 25 % plus petits que la normale et une augmentation légère à modérée de la quantité de tissus interstitiels dans les testicules a été observée au microscope. Plusieurs paramètres relatifs aux portées ont été réduits dans les groupes exposés à la forte dose des générations F1 et F2, dont un plus faible poids à la naissance et un plus faible poids au sevrage. Une réduction de la consommation alimentaire (environ 65 % par rapport aux témoins) a été observée chez les mères de la génération F1 et leur produit gestationnel (taille de la portée x poids de la portée) ne représentait que 62 % de ceux du groupe témoin.

L'US EPA (2010) a fixé :

- une DSENO chez les femelles de 452 mg/kg p.c./j pour la toxicité systémique (plus forte dose testée) ;
- une DMENO relative à la reprotoxicité de 408 mg/kg p.c./j basée sur l'aspermatogenèse et la diminution de la taille des testicules associée à une DSENO de 39 mg/kg p.c./j.

3.5.5. Effets sur le développement

En clinique, il n'existe pas actuellement de données suffisamment pertinentes pour évaluer un éventuel effet malformatif ou fœtotoxique de la trinitrine lorsqu'elle est administrée pendant la grossesse. En conséquence, hormis en situation exceptionnelle, l'utilisation de la trinitrine est déconseillée pendant la grossesse (Ansm, 2011b).

Des rattes albinos gravides (21 / dose) ont été exposées à du TNG via l'alimentation à 0 ; 0,01 ; 0,1 ou 1 % w/w du 6^e au 15^e jour de gestation (Ellis *et al.*, 1978).

Une augmentation de l'incidence de résorption tardive a été observée dans tous les groupes traités mais sans qu'elle ne soit statistiquement significative ni dose-dépendante. Une réduction de la masse corporelle et une augmentation de la masse du foie ont été observés chez les mères exposées à la plus forte dose. Des hernies diaphragmatiques ont été observées sur 4 portées parmi 19 dans le groupe le plus fortement exposé et semble liées à l'exposition même si leur incidence est faible. Le nombre d'anomalie d'ossification de l'os hyoïde a également été augmenté dans ce groupe.

3.5.6. Génotoxicité

Le TNG ne présente pas, ou n'a qu'une faible, activité mutagène lors d'essais *in vitro* sur bactéries (*Salmonella typhimurium*) et levure (*Saccharomyces cerevisiae*) avec ou sans activation métabolique (Ellis *et al.*, 1978 ; Simmon *et al.*, 1977 in US EPA, 1993).

Maragos *et al.* (1993) ont montré que le TNG ne présente pas d'effet mutagène chez plusieurs souches de *S. typhimurium* (TA1975, TA102, TA1538, TA100, TA100NR et YG1026) mais qu'une mutagénicité est observée sur la souche TA1535 (avec et sans activation métabolique). Les auteurs expliquent la mutagénicité sur cette souche par une réaction de réduction métabolique du TNG formant de l'oxyde nitrique, qui présente des effets mutagènes.

Le TNG n'était pas génotoxique ou mutagène lors d'essais *in vitro* sur des cultures cellulaires de moelle osseuse ou rénale chez le rat, sur des lymphocytes chez le chien et le rat ou sur des cellules ovariennes de hamsters chinois (Ellis *et al.*, 1978 ; Lee *et al.*, 1976 in US EPA, 1993). Un test de mutation létale dominante chez le rat était aussi négatif (Ellis *et al.*, 1978). Les mutations induites par le TNG observées sur les bactéries seraient similaires à celles induites par l'oxyde nitrique (HCN, 2005).

3.5.7. Cancérogénicité

Une faible augmentation des tumeurs pulmonaires a été observée chez des travailleurs co-exposés au TNG et au dinitrate d'éthylène glycol (Craig *et al.*, 1985 *in* SCOEL, 2011).

Dans l'étude de toxicité sur le long terme chez le rat de Ellis *et al.* (1984), les auteurs relient les tumeurs à une toxicité d'organe pré-existante et à une prolifération cellulaire réactionnelle. Les dysplasies hépatocellulaires observées dans l'étude sur le long terme chez la souris sont discutables car elles s'observent aussi chez les témoins (Ellis *et al.*, 1978). Une augmentation de l'incidence de tumeurs pituitaires a été observée chez la souris dans l'étude de Suzuki *et al.* (1985), mais des résultats négatifs ont été constatés dans l'étude de Ellis *et al.* (1984) pour des doses et des durées d'exposition supérieures (SCOEL, 2011). Sur une échelle à quatre niveaux (A, B, C, D), le SCOEL classe le TNG dans le groupe C pour la cancérogénicité, *i.e.* considère le TNG comme une molécule cancérogène présentant un seuil d'effet toxicologique (SCOEL, 2011).

3.5.8. Autres effets

L'US EPA (2010) a identifié le TNG comme :

- modérément irritant pour la peau dans un essai chez le lapin ;
- non irritant pour les yeux dans un essai chez le lapin ;
- sensibilisant pour la peau dans un essai chez le cochon d'Inde.

3.6. Valeurs de référence

3.6.1. En Europe

Règlement (CE) n° 1272/2008 du Parlement européen et du Conseil dit « CLP »⁴

Unst. Expl. ; H200	Explosif instable
Acute Tox. 1 ; H310	Toxicité aiguë lors d'un contact cutané, catégorie 1
Acute Tox. 2 ; H300	Toxicité aiguë par ingestion, catégorie 2
Acute Tox. 2 ; H330	Toxicité aiguë par inhalation, catégorie 2
STOT RE 2 ; H373	Toxique pour les organes exposés de façon prolongée ou répétée, catégorie 2
Aquatic Chronic 2 ; H411	Dangereux pour les espèces aquatiques, catégorie 2

Règlement (CE) n° 1907/2006 du Parlement européen et du Conseil dit « règlement REACH »⁵

En milieu professionnel

Derived no effect level (DNEL) exposition sur le court terme / exposition cutanée / effets systémiques : 2,5 mg/kg p.c./j

DNEL exposition sur le long terme / exposition cutanée / effets systémiques : 0,5 mg/kg p.c./j

Pour la population générale

DNEL exposition sur le long terme / exposition cutanée / effets systémiques : 0,5 mg/kg p.c./j

⁴ Règlement (CE) n°1272/2008 du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) n°1907/2006

⁵ Règlement (CE) no 1907/2006 du Parlement européen et du Conseil du 18 décembre 2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances (REACH), instituant une agence européenne des produits chimiques, modifiant la directive 1999/45/CE et abrogeant le règlement (CEE) no 793/93 du Conseil et le règlement (CE) n°1488/94 de la Commission ainsi que la directive 76/769/CEE du Conseil et les directives 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE et 2000/21/CE de la Commission

Predicted No Effect Concentration (PNEC)

PNEC eaux douces : 1,98 mg/L

Du fait du manque d'information sur le mode de construction des DNEL, ces valeurs toxicologiques de référence ne seront pas retenues dans l'évaluation du risque sanitaire.

3.6.2. Hors Europe

US EPA – eau de boisson

À partir de la dose posologique d'administration sublinguale du TNG pour le traitement de l'angine de poitrine chez l'adulte, soit une dose variant habituellement entre 0,15 et 0,60 mg et pouvant causer des effets secondaires caractérisés par une hypotension marquée, des épisodes transitoires de vertige, de faiblesse et une ischémie cérébrale transitoire (Needleman et Johnson, 1980), l'US EPA établit la dose thérapeutique en considérant un sujet adulte d'un poids corporel de 70 kg et retient une dose posologique comprise entre 0,002 et 0,009 mg/kg p.c./j, soit une dose thérapeutique moyenne de 0,005 mg/kg/j. Par la suite, pour construire son *Health Advisory* (HA), il considère le scénario d'exposition hydrique d'un enfant de 10 kg de poids corporel consommant quotidiennement un litre d'eau de boisson, puis appliquant un facteur d'incertitude de 10 à la dose moyenne thérapeutique de 0,005 mg/kg p.c./j, US EPA dérive une valeur guide court terme (*Health Advisory-one-day*) de 5 µg/L pour le TNG dans l'eau de boisson.

Ensuite, pour dériver sa valeur pour l'exposition sur le long terme, l'US EPA tient compte des effets observés chez des travailleurs exposés de façon chronique au TNG. Ainsi, il est reconnu qu'après avoir éprouvé les premiers symptômes (céphalées, vertiges, faiblesse musculaire), les travailleurs exposés de façon chronique développent une tolérance au TNG mais que les symptômes réapparaissent après plusieurs jours en l'absence d'exposition au TNG. L'effet le plus sévère d'une exposition chronique en milieu professionnel est une forme de dépendance au nitrate organique qui se traduit par des effets cardiovasculaires sévères survenant plusieurs jours après l'arrêt d'une exposition chronique.

Prenant en compte le risque accru associé au développement d'une tolérance aux effets délétères du TNG, l'US EPA a extrapolé sa valeur guide (HA one day) pour toute les durées d'exposition et tous les âges. Le « *long term health advisory* » est donc lui aussi établi à 5 µg/L (US EPA, 1987⁶).

Le TNG n'est pas apparu cancérogène dans une étude de deux ans chez le chien et la souris. Cependant, des carcinomes hépatocellulaires ont été détectés chez des rats mâles et femelles Charles River CD (Ellis *et al.*, 1978). Sur la base des incidences de ces tumeurs hépatiques chez le rat, l'US EPA a construit un excès de risque unitaire de $1,66 \cdot 10^{-2} \text{ (mg/kg p.c./j)}^{-1}$ en appliquant à la relation dose-effet un modèle multi-étapes linéarisé (LMS) (US EPA, 1987). **Ainsi, une concentration de 20 µg/L⁷ de TNG dans une eau de boisson consommée quotidiennement par un sujet adulte (vie entière) est associée à un excès de risque individuel de 10^{-5} .**

⁶ Cette référence, bien que commandée aux USA, n'était pas disponible au moment de la réalisation de cette expertise. Les informations présentées pour détailler le mode de construction de la valeur de référence du trinitroglycérol dans l'eau de boisson ont été transmises par Joyce DONOHUE (Office of Water – US EPA – USA).

⁷ À titre informatif, une concentration de 2 µg/L de TNG dans l'eau de boisson consommée quotidiennement par un sujet adulte serait associée à un excès de risque individuel de 10^{-6} .

3.7. Conclusions

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail :

- constate que le TNG est une molécule très polaire et très soluble dans l'eau ce qui rend son élimination dans les eaux complexe;
- note qu'il existe peu de données publiées sur la traitabilité du TNG dans les filières de production d'EDCH ;
- constate que la dégradation du TNG dans le compartiment aquatique peut être obtenue, notamment du fait d'une biodégradabilité en conditions aérobies, avec néanmoins la formation de métabolites dinitrés / mononitrates ;
- considère que pour éliminer efficacement le TNG dans la filière de traitement de l'eau destinée à la consommation humaine de Cantinolle, l'adsorption sur charbon actif en poudre pourrait être envisagée mais, *a priori*, avec des taux de traitement relativement élevés qui devraient être déterminés expérimentalement ;
- estime, au regard des données toxicologiques actuelles, que la consommation journalière d'eau de boisson présentant une concentration en TNG inférieure à 5 µg/L n'entraîne pas de risque pour la santé des consommateurs ;
- attire l'attention sur le fait que, suite à un incendie dans un local industriel, une grande diversité de contaminants est déversée dans l'environnement, y compris des espèces générées sous l'effet de la chaleur, et que cela rend nécessaire la mise en œuvre d'actions de gestion adaptées aux effets potentiels du mélange réel de contaminants.

Le directeur général

Marc Mortureux

MOTS-CLES

Trinitroglycérol, nitroglycérine, eau de boisson

BIBLIOGRAPHIE

Accashian JV, Smets BF, Kim B-J (2000) Aerobic Biodegradation of Nitroglycerin in a Sequencing Batch Reactor. *Water Environment Research* 72(4), 499-506.

AFNOR NF EN ISO 22478 (2006) Dosage de certains explosifs et de composés apparentés.

Alencar J.L., Lobysheva I., Geffard M., Sarr M., Schott C., Schini-Kerth V.B., Nepveu F., Stoclet J.C., Muller B. (2003) Role of S-nitrosation of cysteine residues in long-lasting inhibitory effect of nitric oxide on arterial tone. *Molecular Pharmacology* 63: 1148-1158.

Ansm (2007) DIAFUSOR 5 mg/24 heures, dispositif transdermique - RCCP. Disponible sous <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/frames.php?specid=63334650&typedoc=R&ref=R0132505.htm> (consulté le 20/07/2015)

Ansm (2011a) NITRONAL 1 mg/ml, solution pour perfusion - RCCP. Disponible sous <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/frames.php?specid=62903853&typedoc=R&ref=R0188168.htm> (consulté le 20/07/2015)

Ansm (2011b) TRINITRINE SIMPLE LALEUF 0,15 mg, pilule enrobée - RCCP. Disponible sous <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/frames.php?specid=67372890&typedoc=R&ref=R0196027.htm> (consulté le 13/07/2015)

Bhaumik S, Christodoulatos C, Korfiatis GP, Brodman BW (1997) Aerobic and anaerobic biodegradation of nitroglycerin in batch and packed bed bioreactors. Disponible sous <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0030666134&partnerID=40&md5=19d362b025815a54a827f2163842e40e>.

Bordeleau G, Martel R, Ampleman G, Thiboutot S (2013) Photolysis of RDX and nitroglycerin in the context of military training ranges. *Chemosphere* 93(1), 14-19.

Capellos C, Fisco WJ, Ribaud C, Hogan VD, Campisi J, Murphy FX, Castorina TC, Rosenblatt DH (1984) Basic hydrolysis of glyceryl nitrate esters. III. Trinitroglycerin. *International Journal of Chemical Kinetics* 16(8), 1027-1051.

Christodoulatos C, Bhaumik S, Brodman BW (1997) Anaerobic biodegradation of nitroglycerin. *Water Research* 31(6), 1462-1470.

Ellis H.V., Hagensen J.H., Hodgson J.R., Minor J.L., Hong C.-B., Ellis E.R., Girvin J.D., Helton D.O., Herndon B.L., Lee C.-C. (1978) Mammalian toxicity of munitions compounds. Phase III. Effects of life-time exposure. Part II. Trinitroglycerin. Progress report No. 8. Contract DAMD 17-74-C-4973. AD A078746. Kansas City, MO : Midwest Research Institute.

Ellis, H.V.; Hong, C.B.; Lee, C.C.; Dacre, J.C.; Glennon, J.P. (1984) Subacute and chronic toxicity studies of trinitroglycerin in dogs, rats, and mice. *Fundamental and Applied Toxicology*, 4, 1984, 248-260

HCN (2005) Health Council of the Netherlands: Committee on Updating of Occupational Exposure Limits, Health-Based Reassessment of Administrative Occupational Exposure Limits – Glycerol trinitrate. Publ. No. 2000/15OSH/150. Dutch Expert Committee on Occupational Standards, The Hague, 2005

HSDB (2005) Nitroglycerin. Disponible sous <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~Xu5HQy:1> (consulté le 13/07/2015)

Lee C.-C., Dilley J.V., Hodgson J.R., Helton D.O., Wiegand W.J., Roberts D.N., Anderson B.S., Halfpap L.M., Kurtz L.D. et West N. (1975) Mammalian toxicity of munition compounds. Phase I. Acute oral toxicity, primary skin and eye irritation, dermal sensitization, and disposition and metabolism. Report n°1. Project n°3900-B. Contract n° DAMD 17-74-C-4073. AD-B011150. Kansas City, MO :Midwest Research Institute.

- Lincoln T.M., Dey N. et Sellak H. (2001) Invited review: cGMP-dependent protein kinase signaling mechanisms in smooth muscle: from the regulation of tone to gene expression. *Journal of Applied Physiology*. 91:1421-1430.
- Maragos, C.M., Andrews, A.W., Keefer, L.K., Elespuru, R.K. (1993) Mutagenicity of glyceryl trinitrate (nitroglycerin) in *Salmonella typhimurium*. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 298 (3), pp. 187-195.
- Needleman P. et Johnson E.M. (1980) The pharmacological basis of therapeutics, 6th ed. Chap. 33. New York, NY: Macmillan.
- Roberts et Hartley (1992) Drinking water health advisory. Munitions. ISBN 0-87371-754-6. Edité par Welford C.
- Saltel M. Système d'information pour la gestion des eaux souterraines en Aquitaine. Article consulté en ligne en juillet 2015. <http://sigesaqj.brgm.fr/Oligocene.html#5>
- SCOEL (2011) Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for glyceryl trinitrate (nitroglycerin). SCOEL / SUM / 147. January 2011. 16 p.
- Spanggord RJ, Mill T, Chou T-W, Mabey WR, Smith JH, Lee S (1980) Environmental Fate Studies on Certain Munition Wastewater Constituents. Final Report, Phase II - Laboratory Studies. SRI International. Disponible sous <http://www.dtic.mil/dtic/tr/fulltext/u2/a099256.pdf>.
- SRC (2015) PhysProp Database. Disponible sous <http://esc.syrres.com/fatepointer/webprop.asp?CAS=55630> (consulté le 13/07/2015)
- Suzuki, K.; Sudo, K.; Yamamoto, T. *et al.* (1975) The carcinogenicity of N-ethoxycarbonyl-3-morpholinopyrrolidine (molsidomine) in comparison with nitroglycerin in C57BL/6Jms mice. *Pharmacometrics*, 9, 1975, 229-242, cité in HCN, 2005
- US EPA (1987) Trinitroglycerol health advisory. EPA number 820K87002. US Environmental Protection Agency. Office of Water. Washington D.C. 78 pages.
- US EPA (1993) Overview of the health effects of selected munitions. Office of water. EPA 822-R-93-022. November 1993. 106 pages. <http://yosemite.epa.gov/water/owrccatalog.nsf/065ca07e299b464685256ce50075c11a/8ead7c86b30bda9085256b0600724679!OpenDocument>
- US EPA 8332 rev 0 (1996). Nitroglycerine by high performance liquid chromatography.
- US EPA (2010) Screening-level hazard characterization. Nitroglycerin (CASRN 55-63-0). 14 pages. http://www.epa.gov/chemrtk/hpvis/hazchar/55630_%20Nitroglycerin_September_2010.pdf
- Wendt TM, Cornell JH, Kaplan AM (1978) Microbial degradation of glycerol nitrates. *Applied Environmental Microbiology* 36(5), 693-9.

ANNEXE : PRESENTATION DES INTERVENANTS

Groupe de travail « ERS EDCH »

Président

M. Michel JOYEUX

Membres

M. Pierre-Jean CABILLIC

M. Edmond CREPPY

M. Jean-Michel MAIXENT

M. Joseph de LAAT

Mme Laetitia KNOCKAERT

M. Patrick LEVALLOIS

M. Christophe ROSIN

Mme Marie-Pierre SAUVANT-ROCHAT

Mme Bénédicte WELTÉ

Autres experts sollicités

M. Yves LÉVI

M. Jacques-Noël MUDRY

M. Jean-Ulrich MULLOT

Participation Anses – Unité d'évaluation des risques liés à l'eau

Mme Morgane BACHELOT

M. Thomas CARTIER

Mme Anne NOVELLI