

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Elaboration de VTR chronique par voie orale pour l'acide perfluorohexane sulfonique (PFHxS)

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Juin 2017

Édition scientifique



anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Elaboration de VTR chronique par voie orale pour l'acide perfluorohexane sulfonique (PFHxS)

Avis de l'Anses

Rapport d'expertise collective

Juin 2017

Édition scientifique

Le Directeur général

Maisons-Alfort, le 23 juin 2017

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

relatif à «l'élaboration de valeurs de référence chroniques par voie orale pour 4 composés perfluorés : l'acide perfluorohexanoïque (PFHxA), l'acide perfluorohexane sulfonique (PFHxS), l'acide perfluorobutanoïque (PFBA), et l'acide perfluorobutane sulfonique (PFBS)»

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 s'est auto-saisie le 9 juin 2015 pour la réalisation des expertises suivantes : élaboration de valeurs de référence chroniques par voie orale pour les composés perfluorés suivants : l'acide perfluorohexanoïque (PFHxA, CAS n° 307-24-4), l'acide perfluorohexane sulfonique (PFHxS, CAS n°355-46-4), l'acide perfluorobutanoïque (PFBA, CAS n°375-22-4), et l'acide perfluorobutane sulfonique (PFBS, CAS n°375-73-5).

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Le présent avis d'expertise fait suite aux travaux de l'Agence sur les composés perfluorés ayant donné lieu à un rapport publié en 2015 (Anses, 2015b), réalisé dans le cadre de la saisine de la Direction générale de la santé de juin 2009 relative aux substances reprotoxiques et/ou perturbatrices endocriniennes (PE) (Saisine «n° 2009-SA-0331»).

Ce rapport a mis en évidence 4 perfluorés prioritaires : l'acide perfluorobutanoïque (PFBA), l'acide perfluorobutane sulfonique (PFBS), l'acide perfluorohexanoïque (PFHxA) et l'acide perfluorohexane sulfonique (PFHxS). Cette sélection a été faite selon plusieurs critères dont le statut réglementaire (REACH et réglementation sectorielle), le corpus de données disponibles pour chacun des composés, l'utilisation et l'évolution de l'utilisation des composés, les valeurs de référence déjà disponibles etc... Ces quatre composés perfluorés ont donc fait l'objet de travaux distincts dans l'objectif de leur attribuer des valeurs toxicologiques de référence (VTR).

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 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, 2015a).

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.

Une valeur toxicologique indicative (VTi) est un repère toxicologique pouvant être utilisé pour l'évaluation d'un risque. Il s'agit d'une valeur indicative moins robuste que la VTR présentant ainsi un niveau de confiance faible.

Une VTi pourra être proposée lorsque les conditions nécessaires à l'élaboration d'une VTR ne sont pas remplies et qu'une évaluation quantitative des risques (EQRS) est nécessaire dans un contexte d'exposition donné :

1. en cas d'**insuffisance des données** disponibles sur la substance pour caractériser le danger de la substance ou de **doute sur le caractère néfaste de l'effet**. Dans ce cas, une veille bibliographique sera menée par l'Anses sur ces substances en vue de remplacer les VTi par des VTR si de nouvelles données le permettent ;
2. en cas de **contraintes de temps et/ou de ressources**. Dans ce cas, la VTi serait élaborée au mieux dans le temps imparti afin de répondre aux impératifs d'action des décideurs, puis un travail complémentaire sera le cas échéant réalisé afin de proposer une VTR.

Sur la base de l'approche OMS/IPCS proposant une démarche par étapes pour l'évaluation des risques sanitaires dont la première étape consiste en une évaluation préliminaire (*screening*), la VTi pourra être utilisée pour écarter un risque dans une approche d'évaluation de risque de premier niveau, conservatrice (OMS-IPCS, 2010).

A la différence d'une VTR, une VTi ne devrait être utilisée que pour répondre à la situation et au contexte spécifiques qui ont justifié sa construction. Les conditions d'application devront donc être clairement explicitées pour chacune des VTi proposées. Comme pour les VTR, l'utilisation et l'interprétation des VTi devront obligatoirement tenir compte de la voie d'exposition, de la durée d'exposition, de la période d'exposition, du type d'effet auquel elle est associée et de la population cible pour laquelle elle est destinée. Le mode de construction des VTi dépend des données disponibles sur les mécanismes d'action biologique des substances et d'hypothèses communément admises. On distingue ainsi des VTi à seuil de dose et des VTi sans seuil de dose. Une VTi est élaborée en suivant les mêmes étapes de construction qu'une VTR.

Les VTi ne seront pas publiées sur le site internet de l'Anses indépendamment des évaluations du risque simplifiée qui auront justifié leur élaboration.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

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

L'expertise relève du domaine de compétences du comité d'experts spécialisé (CES) « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » (appelé ci-après CES « Substances »). Les travaux ont été présentés au CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques entre juin 2015 et février 2017. Ils ont été adoptés par le CES « Substances » réuni le 23 février 2017.

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

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

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

■ Acide perfluorobutanoïque (PFBA) - CAS n°375-22-4

- Toxicocinétique

Au regard des T_{max}^1 et des biodisponibilités calculées dans des expérimentations par voie orale chez le rat et la souris, l'absorption du PFBA semble à la fois rapide et relativement complète. Suite à une exposition par voie orale, les faibles valeurs des volumes de distribution indiquent que le PFBA est très peu distribué dans les tissus. L'ensemble des données converge vers une élimination rapide du PFBA. Chez toutes les espèces étudiées (rat, souris, singe), l'urine est la voie d'excrétion principale. L'élimination *via* les fèces est quant à elle négligeable.

- Toxicité

A ce jour, trois études animales de toxicité par exposition répétée (28 jours, 90 jours, et toxicité sur le développement) sont disponibles pour évaluer ce composé. Elles ont notamment mis en évidence des effets sur la thyroïde, sur le développement, et sur le foie.

Concernant les effets sur la thyroïde, dans les études 28 jours et 90 jours de Butenhoff *et al.* (2012), est observée, en plus d'une augmentation du poids absolu de la thyroïde, une diminution des taux sériques de T4 totale et de T4 libre (sans modification des taux de TSH²).

Concernant les effets sur le développement, un retard d'ouverture des yeux statistiquement significatif mais modéré est observé, avec une relation dose réponse peu robuste.

Concernant les effets hépatiques, une augmentation du poids absolu (+ 45% dans l'étude 28 jours, et + 23% dans l'étude 90 jours, aux plus fortes doses) et relatif du foie est observée dans les deux études de Butenhoff *et al.* (2012), associée à des hypertrophies hépatocellulaires (uniquement minimales dans l'étude 28 jours, minimales à légères dans l'étude 90 jours). Dans l'étude 28 jours et l'étude sur le développement, une diminution statistiquement significative du cholestérol est

¹ Tmax : temps d'atteinte de la concentration maximale

² TSH : Thyroïdostimuline

également observée. À l'exception de cette diminution du cholestérol, toutes les valeurs des paramètres biochimiques mesurés sont dans la gamme de la normalité, c'est-à-dire usuellement observées chez les rats Sprague-Dawley. Elles ne présentent donc pas de pertinence toxicologique. Dans les deux études de toxicité répétée, les auteurs ont également mesuré les niveaux hépatiques de transcrits d'ARNm d'intérêt. Un certain nombre de ces transcrits (Acox, CYP4A1...), marqueurs d'une activation de PPAR α ³, augmente. Est également observée une augmentation des niveaux du CYP2B2, marqueur de l'activation de CAR⁴. Enfin, une diminution du niveau hépatique du CYP1A1 est également observée, suggérant une diminution de l'activité de l'AhR⁵.

- Construction
 - Choix de l'effet critique

- **Effets thyroïdiens**

Le CES ne considère pas pertinent de construire une VTR basée sur les modifications de concentrations hormonales mentionnées plus haut, les auteurs eux-mêmes émettant un doute sur la fiabilité des résultats obtenus (problème dans la réalisation des mesures).

- **Effets sur le développement**

Les auteurs n'ont pas détaillé leur méthodologie pour évaluer le retard d'ouverture des yeux. De plus, celui-ci n'est pas corroboré par d'autres critères de retards de développement (comme par exemple un retard de sortie des incisives). Le CES ne considère pas pertinent de construire une VTR basée sur ces modifications.

- **Effets hépatiques**

Compte tenu des différences de mécanisme d'action et des conséquences de l'activation des PPAR α entre l'Homme et les rongeurs, établis sur la base de souris au PPAR α humanisé, cet effet n'est pas jugé transposable à l'Homme (Hall *et al.*, 2012). En conséquence, les modifications des transcrits relevant d'une activation des PPAR α ne peuvent donc pas soutenir l'élaboration d'une valeur de référence sur des effets hépatiques (Hall *et al.*, 2012). De même que pour PPAR α , il semble exister de fortes différences entre le CAR murin et humain, que ce soit au niveau de ses ligands ou des réponses médiées par ce récepteur, la société européenne de pathologie toxicologique (ESTP) considérant même leur activation comme un effet non-néfaste (Hall *et al.*, 2012). En particulier, la réponse concernant la lipogenèse semble différente entre l'Homme et les rongeurs. L'extrapolation à l'Homme de ces observations faites sur un modèle rongeur semble donc discutable dans l'objectif de les retenir comme effet critique (Lynch *et al.*, 2014 ; Yang *et al.*, 2013 ; Hall *et al.*, 2012).

Selon les documents de l'Agence américaine de protection de l'environnement (U.S. EPA) (2002) et de l'ESTP (Hall *et al.*, 2012), lors d'une hypertrophie hépatocytaire, en l'absence de modifications histologiques, des preuves de dommages hépatocytaires caractérisés par une modification dose dépendante, biologiquement significative et cohérente d'au moins deux paramètres hépatiques sont nécessaires pour caractériser un effet néfaste pour le foie. Ces

³ PPAR α : Peroxisome proliferator-activated receptor alpha. Récepteur activé par les proliférateurs de peroxyosomes

⁴ CAR : Constitutive Androstane Receptor. Récepteur constitutif des androstanes

⁵ AhR : Aryl Hydrocarbon Receptor. Récepteur aux hydrocarbures aromatiques

conditions ne sont donc pas remplies dans le cas présent. Selon ces critères, les effets hépatiques ne devraient donc pas être considérés comme néfastes.

Néanmoins, bien que pris indépendamment les uns des autres, aucun ne soit suffisant pour construire une VTR (ampleur de la réponse) ou soit totalement transposable à l'Homme, de nombreux effets (hypertrophie et signes fonctionnels) liés aux métabolismes hépatique et lipidique sont observés suite à une exposition au PFBA. Par ailleurs, même s'il s'agit d'une étude mécanistique, des nécroses hépatiques minimales à légères ont été observées, en plus d'hypertrophies, chez les souris mâles de type sauvage exposées 28 jours au PFBA dans l'étude de Foreman *et al.* (2009). Enfin, il apparaît également nécessaire de prendre en compte dans cette analyse les connaissances existantes sur l'ensemble de la famille des perfluorés, et notamment les deux composés les plus étudiés de cette famille, à savoir le PFOS et le PFOA. Une toxicité hépatique clairement établie pour ces deux composés, allant jusqu'à l'apparition d'adénomes hépatocytaires chez l'animal, ne peut pas être exclue chez l'Homme (EFSA, 2008 ; U.S. EPA, 2016a, 2016b).

Au regard de tous ces éléments, le CES a décidé de retenir les effets hépatiques comme effet critique. Considérant les doutes existant sur le choix de l'effet critique et son caractère néfaste, le choix a été fait de construire une VTi pour le PFBA.

- Choix de l'étude clé

L'étude subchronique (90 jours), ayant la modalité d'exposition la plus longue parmi les études disponibles sur ce composé, a été retenue pour le choix du point de départ (Butenhoff *et al.* 2012).

- Choix de la dose critique

Au regard de l'ensemble des effets apparaissant à 30 mg/kg/j dans cette étude (augmentation statistiquement significative du poids absolu et relatif du foie, hypertrophie hépatocellulaire, diminution du transcrit d'ARNm marqueur de l'Ahr, ...), cette dose a été considérée comme le LOAEL⁶. Le NOAEL⁷, dose directement inférieure dans l'étude de 6 mg/kg/j est retenue comme dose critique.

- Ajustements

Dans le but de réduire le degré d'incertitude due à la variabilité inter-espèce lors de la détermination d'une dose équivalente humaine (HED), un ajustement allométrique a été réalisé, selon l'équation suivante :

$$\text{Dose équivalente humaine} = \text{Dose animal} \times \left(\frac{\text{Poids animal}}{\text{Poids Homme}} \right)^{1/4}$$

$$\text{NOAEL}_{\text{HED}} = 6,0 \text{ mg / kg / j} \times \left(\frac{0,523 \text{ kg}}{70 \text{ kg}} \right)^{1/4} = 1,764 \text{ mg / kg / j}$$

- Choix des facteurs d'incertitude

⁶ LOAEL : Lowest Observed Adverse Effect Level (Dose minimale entraînant un effet néfaste observé)

⁷ NOAEL : No Observed Adverse Effect Level (Dose maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé)

Le calcul de la VTi à partir du NOAEL_{HED} a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2015a) :

- Variabilité inter-espèces (UF_A) : 2,5

L'ajustement allométrique réalisé a permis de calculer une dose équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5.

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : 10

Aucune donnée scientifique permettant de réduire la valeur par défaut n'étant disponible, la valeur de 10 est utilisée.

- Transposition subchronique à chronique (UF_S) : 3

Il s'agit d'une étude subchronique, les animaux ayant été exposés 90 jours. Pour prendre en compte d'éventuels effets survenant à des doses plus faibles après des expositions plus longues, il a été considéré pertinent d'appliquer un UF_S de 3.

- Utilisation d'une BMDL, d'un LOAEL ou d'un NOAEL (UF_{B/L}) : 1

La construction de la VTi est basée ici sur un NOAEL, ce facteur ne s'applique pas.

- Insuffisance des données (UF_D) : 1

Les trois études animales de toxicité par exposition répétée (28 jours, 90 jours, et toxicité sur le développement) disponibles sur le PFBA sont suffisantes pour évaluer la toxicité du composé.

Un facteur d'incertitude global de 75 est donc utilisé pour la construction de la VTi du PFBA.

- Proposition de VTi chronique par ingestion

$$VTi = \frac{1,764 \text{ mg/kg/j}}{75} = 0,0235 \cong 0,024 \text{ mg/kg/j}$$

■ Acide perfluorohexane sulfonique (PFHxS) - CAS n°355-46-4

- Toxicocinétique

Aucune donnée sur la toxicocinétique du PFHxS n'est disponible.

- Toxicité

De nombreuses études chez l'Homme sont disponibles pour évaluer la toxicité du PFHxS, mais ne permettent pas de dériver de VTR. De plus, à ce jour seule une étude de toxicité par doses répétées combinée avec un test de toxicité sur la reproduction et le développement (OCDE 422) permet d'évaluer ce composé (Butenhoff *et al.*, 2009). Elle a notamment mis en évidence des effets sur la thyroïde et le foie.

Concernant les effets sur la thyroïde, une augmentation des hypertrophies/hyperplasies thyroïdiennes est observée.

Concernant les effets hépatiques, une augmentation du poids absolu et relatif du foie aux deux plus fortes doses (+ 20% et 56% pour le poids absolu, pas de données pour les poids relatifs) associée à des hypertrophies hépatocellulaires (9/10 rats, 8 minimales, 1 légère à 3 mg/kg/j et 10/10 rats, 4 minimales, 5 légères et 1 moyenne à 10 mg/kg/j) est observée. Une augmentation statistiquement significative de la phosphatase alcaline (ALP) (+ 37%) est observée à 10 mg/kg/j.

Une augmentation statistiquement significative de l'albumine (5%) et du ratio albumine/globuline (19%), ainsi qu'une diminution du cholestérol (- 42%) et des triglycérides (- 68%) sont également observées à la plus forte dose, bien que la signification toxicologique de ces modifications soit discutable.

- Construction
 - Choix de l'effet critique

- **Effets thyroïdiens**

Selon les auteurs, l'augmentation des hypertrophies/hyperplasies serait la conséquence de l'hypertrophie hépatique. L'absence de test statistique et de dosages hormonaux ne permet pas d'étayer cet argument mécanistique. Sans confirmation du mécanisme d'action, l'hypertrophie thyroïdienne apparaît trop peu robuste pour pouvoir construire une valeur de référence.

- **Effets hépatiques**

Selon les documents de l'U.S. EPA (2002) et de l'ESTP (Hall *et al.* 2012), lors d'une hypertrophie hépatocytaire, en l'absence de modifications histologiques, des preuves de dommages hépatocytaires caractérisés par une modification dose dépendante, biologiquement significative et cohérente d'au moins deux paramètres hépatiques sont nécessaires pour caractériser un effet néfaste sur le foie. Ces conditions ne sont donc pas remplies dans le cas présent. Selon ces critères, les effets hépatiques ne devraient donc pas être considérés comme néfastes.

Néanmoins, bien que pris indépendamment les uns des autres, aucun ne soit suffisant pour construire une VTR (ampleur de la réponse) ou soit totalement transposable à l'Homme, de nombreux effets (hypertrophie et signes fonctionnels) liés aux métabolismes hépatique et lipidique sont observés suite à une exposition au PFHxS. Par ailleurs, il apparaît également nécessaire de prendre en compte dans cette analyse les connaissances existantes sur l'ensemble de la famille des perfluorés, et notamment les deux composés les plus étudiés de cette famille, à savoir le PFOS et le PFOA. Une toxicité hépatique clairement établie pour ces deux composés, allant jusqu'à l'apparition d'adénomes hépatocytaires chez l'animal, ne peut pas être exclue chez l'Homme (EFSA, 2008 ; U.S. EPA, 2016a, 2016b).

Au regard de tous ces éléments, le CES a décidé de retenir les effets hépatiques comme effet critique. Considérant les doutes existant sur le choix de l'effet critique et son caractère néfaste, le choix a été fait de construire une VTi pour le PFHxS.

- Choix de l'étude clé

Une seule étude expérimentale est disponible pour la construction d'une VTi (Butenhoff *et al.*, 2009). Elle suit les lignes directrices OCDE 422 (Étude combinée de toxicité à doses répétées et de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement), et a donc été retenue comme étude clé.

- Choix de la dose critique

Au regard de l'ensemble des effets apparaissant à 3 mg/kg/j dans cette étude (augmentation statistiquement significative du poids absolu et relatif du foie, hypertrophie hépatocellulaire chez 9 rats sur 10), cette dose a été considérée comme le LOAEL.

Le NOAEL, dose directement inférieure dans l'étude de 1 mg/kg/j est donc retenue comme dose critique.

○ Ajustements

Dans le but de réduire la valeur de l'incertitude due à la variabilité inter-espèce lors de la détermination d'une dose équivalente humaine, un ajustement allométrique a été réalisé, selon l'équation suivante :

$$\text{Dose équivalente humaine} = \text{Dose animal} \times \left(\frac{\text{Poids animal}}{\text{Poids Homme}} \right)^{1/4}$$

$$\text{NOAEL}_{\text{HED}} = 1,0 \text{ mg / kg / j} \times \left(\frac{0,490 \text{ kg}}{70 \text{ kg}} \right)^{1/4} = 0,289 \text{ mg / kg / j}$$

○ Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTi à partir du NOAEL_{HED} a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2015a) :

- Variabilité inter-espèces (UF_A) : 2,5

L'ajustement allométrique réalisé a permis de calculer une dose équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5.

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : 10

Aucune donnée scientifique permettant de réduire la valeur par défaut n'étant disponible, la valeur de 10 est utilisée.

- Transposition subchronique à chronique (UF_S) : 3

Dans l'étude de Butenhoff *et al.* (2009), les rats mâles ont été exposés au minimum 42 jours. En conséquence, il a été considéré pertinent d'appliquer un UF_S de 3.

- Utilisation d'une BMDL, d'un LOAEL ou d'un NOAEL (UF_{B/L}) : 1

La construction de la VTi est basée ici sur un NOAEL, donc un UF_{B/L} spécifique n'est pas nécessaire.

- Insuffisance des données (UF_D) : 1

Une seule étude expérimentale est disponible pour évaluer la toxicité du PFHxS, mais elle combine la toxicité par doses répétées et la reproduction/toxicité développementale. De plus, de nombreuses études chez l'Homme sont disponibles sur ce composé. En conséquence, le CES a considéré qu'un UF_D n'était pas nécessaire.

Un facteur d'incertitude global de 75 est donc utilisé pour la construction de la VTi du PFHxS.

○ Proposition de VTi chronique par ingestion

$$VTi = \frac{0,289 \text{ mg/kg/j}}{75} = 0,0038 \cong 0,004 \text{ mg/kg/j}$$

■ **Acide perfluorobutane sulfonique (PFBS) - CAS n°375-73-5**

- Toxicocinétique

Par voie orale, les valeurs de T_{max} suggèrent une absorption rapide du PFBS.

Le calcul des biodisponibilités chez les mâles et les femelles à partir des données disponibles ne permettent cependant pas de conclure quant à l'importance de l'absorption du PFBS par voie orale chez les rats.

Que ce soit chez les singes ou les rats, les demi-vies d'élimination sériques rapportées dans les études disponibles indiquent que le métabolisme du PFBS chez les mâles semble plus faible que chez les femelles.

L'urine est la voie majeure d'élimination du composé, que ce soit par voie orale ou par voie intraveineuse. De plus, cette élimination est rapide.

- Toxicité

A ce jour, deux études animales de toxicité par exposition répétée (90 jours et 2-génération) permettent d'évaluer ce composé. Elles ont notamment mis en évidence des effets rénaux et hépatiques. Les effets rénaux sont les plus reproductibles dans les études disponibles : une hyperplasie tubulaire est en effet observée dans l'étude 90 jours disponible et dans l'étude deux générations, à la fois chez les parents et chez les petits de la génération F1 (Lieder *et al.*, 2009a, 2009b).

- Construction

- Choix de l'effet critique

Le CES a donc retenu les effets sur le rein comme effet critique. Le CES souligne que ce choix protégera des effets potentiels observés au niveau hépatique.

- Choix de l'étude clé

Bien que l'hyperplasie tubulaire soit également observée dans l'étude par exposition subchronique (Lieder *et al.*, 2009a), l'étude clé retenue est l'étude deux générations (pour les effets observés chez la génération F0) (Lieder *et al.*, 2009b). Les effets rénaux sont plus détaillés par les auteurs dans cette dernière.

- Choix de la dose critique

Les données expérimentales établies sur l'hyperplasie tubulaire ont pu être modélisées à l'aide du logiciel Proast afin d'établir une Benchmark dose (BMD). Il est à noter que seuls les résultats aux deux plus fortes doses étaient fournis par les auteurs de la publication, et ont donc pu être utilisés pour la modélisation.

L'objectif de la démarche est d'estimer la concentration correspondant à un niveau de réponse défini ou à un pourcentage défini de réponse supplémentaire par rapport au témoin, appelé Benchmark Response (BMR). Ce BMR correspond à un excès de risque de 10%, recommandé par l'Anses et l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) pour les données quantales (EFSA, 2017).

Dans le cas du PFBS, les données chez les femelles ont été choisies, celles-ci apparaissant plus sensibles pour cet effet.

Les valeurs retenues sont les suivantes :

$$\text{BMD}_{10\%} : 40,6 \text{ mg/kg/j}$$

$$\text{BMD}_{10\%L_{95\%}} : 24 \text{ mg/kg/j}$$

- Ajustements

Dans le but de réduire la valeur de l'incertitude due à la variabilité inter-espèce lors de la détermination d'une dose équivalente humaine, un ajustement allométrique a été réalisé, selon l'équation suivante :

$$\text{Dose équivalente humaine} = \text{Dose animal} \times \left(\frac{\text{Poids animal}}{\text{Poids Homme}} \right)^{1/4}$$

$$\text{BMD}_{10\%L_{95\% \text{ HED}}} = 24 \text{ mg/kg/j} \times \left(\frac{0,285 \text{ kg}}{70 \text{ kg}} \right)^{1/4} = 6,06 \text{ mg/kg/j}$$

- Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir de la $\text{BMD}_{10\%L_{95\% \text{ HED}}}$ a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2015a) :

- Variabilité inter-espèces (UF_A) : 2,5

L'ajustement allométrique réalisé a permis de calculer une dose équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5.

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : 10

Aucune donnée scientifique permettant de réduire la valeur par défaut n'étant disponible, la valeur de 10 est utilisée.

- Transposition subchronique à chronique (UF_S) : 3

L'étude clé retenue étant une étude 2-génération où les animaux ont été exposés 70 jours, et aucune étude par exposition chronique n'étant disponible, il a été décidé d'appliquer un UF_S de 3.

- Utilisation d'une BMDL, d'un LOAEL ou d'un NOAEL ($\text{UF}_{B/L}$) : 1

La construction de la VTR est basée ici sur une BMDL, ce facteur ne s'applique pas.

- Insuffisance des données (UF_D) : 1

Les données toxicologiques disponibles sur le PFBS sont jugées suffisantes pour évaluer la toxicité du composé.

Un facteur d'incertitude global de 75 est donc utilisé pour la construction de la VTR du PFBS.

- Proposition de VTR chronique par ingestion

$$\text{VTR} = \frac{6,06 \text{ mg/kg/j}}{75} = 0,081 \cong \mathbf{0,08 \text{ mg/kg/j}}$$

- Niveau de confiance

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

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

Moyen : les données toxicologiques sont globalement suffisantes pour évaluer ce composé. Cependant, la plupart des études disponibles, bien que de bonne qualité, ont été produites par le groupe de Butenhoff et collaborateurs (Bijland *et al.*, 2011, Lieder *et al.*, 2009a & b, Olsen *et al.*, 2009).

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

Moyen : l'hyperplasie tubulaire est un effet observé dans toutes les études ayant évalué la toxicité générale de ce composé. Néanmoins, cet effet est généralement peu discuté par les auteurs.

- Niveau de confiance dans le choix de l'étude clé :

Fort : il s'agit d'une étude bien détaillée qui suit les lignes directrice OCDE et les bonnes pratiques de laboratoire.

- Niveau de confiance dans le choix de la dose critique :

Moyen : une BMD a pu être construite, mais uniquement sur deux doses. Les résultats aux deux plus faibles doses n'ont en effet pas été présentés par les auteurs.

Le niveau de confiance global pour cette VTR est donc **moyen**.

■ **Acide perfluorohexanoïque (PFHxA) - CAS n° 307-24-4**

- Toxicocinétique

Suite à une exposition par voie orale, l'absorption du PFHxA semble rapide, avec un T_{max} d'environ 1 heure.

Concernant la distribution systémique du PFHxA, une étude par voie intraveineuse semble montrer des différences entre mâles et femelles, avec une demi-vie sérique plus importante chez les mâles. L'étude par voie orale, cependant, ne rapporte pas une telle différence entre mâles et femelles.

Que ce soit après administration par voie orale ou par voie intraveineuse, le PFHxA est excrété rapidement, et majoritairement dans l'urine.

- Toxicité

Les études disponibles sur le PFHxA ont mis en évidence différents effets, notamment aux niveaux hépatique et rénal.

Au niveau hépatique, une augmentation du poids absolu et relatif du foie associée à une hypertrophie hépatocellulaire et une augmentation statistiquement significative des aspartate aminotransférases (ASAT) et alanine aminotransférases (ALAT) sont observées dans les deux études par exposition subchronique disponibles.

Concernant les effets sur le rein, l'étude par exposition chronique montre une nécrose papillaire et une dégénérescence tubulaire chez les femelles à 200 mg/kg/j (Klaunig *et al.*, 2015). Ces lésions sont associées à une augmentation statistiquement significative du volume urinaire et une diminution statistiquement significative de la gravité spécifique à la même dose chez les femelles à 26 semaines de traitement.

- Construction

- Choix de l'effet critique

▪ Effets hépatiques

Selon l'U.S. EPA (2002), les ALAT et les ASAT doivent être augmentées au minimum d'un facteur 2 ou 3 pour être considérées pertinentes, ce qui n'est pas le cas dans ces deux études. De plus, l'étude par exposition chronique ne montre pas d'augmentation de ces deux paramètres.

▪ Effets rénaux

Au regard de la sévérité des lésions observées au niveau rénal (nécrose papillaire et dégénérescence tubulaire), le CES a décidé de les retenir comme effet critique. Le CES souligne que ce choix protégera des potentiels effets observés au niveau hépatique.

○ Choix de l'étude clé

L'étude clé retenue est l'étude de Klaunig *et al.* (2015), la seule étude disponible pour une exposition chronique (2 ans). Il s'agit d'une étude d'assez bonne qualité, mais qui ne suit pas les lignes directrices de l'OCDE. Il est important de noter qu'un nombre important d'animaux sont également morts avant la fin de l'étude, indépendamment des effets toxiques de la substance.

○ Choix de la dose critique

Du fait de l'absence de relation dose-réponse (effet apparaissant à la plus forte dose), une BMD n'a pas pu être construite. En conséquence, le NOAEL est la dose directement inférieure au LOAEL identifié, à savoir 200 mg/kg/j. Le NOAEL est donc de 30 mg/kg/j.

○ Ajustements

Dans le but de réduire la valeur de l'incertitude due à la variabilité inter-espèce lors de la détermination d'une dose équivalente humaine, un ajustement allométrique a été réalisé, selon l'équation suivante :

$$\text{Dose équivalente humaine} = \text{Dose animal} \times \left(\frac{\text{Poids animal}}{\text{Poids Homme}} \right)^{1/4}$$

$$\text{NOAEL}_{\text{HED}} = 30 \text{ mg/kg/j} \times \left(\frac{0,338 \text{ kg}}{70 \text{ kg}} \right)^{1/4} = 7,91 \text{ mg/kg/j}$$

○ Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir du NOAEL_{HED} a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2015a) :

- Variabilité inter-espèces (UF_A) : 2,5

L'ajustement allométrique réalisé a permis de calculer une dose équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5.

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : 10

Aucune donnée scientifique permettant de réduire la valeur par défaut n'étant disponible, la valeur de 10 est utilisée.

- Transposition subchronique à chronique (UF_S) : 1

L'étude clé retenue étant une étude chronique, un UF_S n'est pas nécessaire.

- Utilisation d'une BMDL, d'un LOAEL ou d'un NOAEL (UF_{B/L}) : 1

La construction de la VTR est basée ici sur un NOAEL, ce facteur ne s'applique pas.

- Insuffisance des données (UF_D) : 1

Les données toxicologiques disponibles sur le PFHxA sont suffisantes pour évaluer la toxicité du composé. Un UF_D n'est donc pas nécessaire.

Un facteur d'incertitude global de 25 est donc utilisé pour la construction de la VTR du PFHxA.

- Proposition de VTR chronique par ingestion

$$VTR = \frac{7,91 \text{ mg/kg/j}}{25} = 0,316 \cong 0,32 \text{ mg/kg/j}$$

- Niveau de confiance

Le niveau de confiance global a été attribué à cette VTR chronique par voie orale 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. Les études disponibles sont de bonne qualité.

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

Moyen : c'est un effet suffisamment robuste pour construire une VTR. Il n'est cependant retrouvé que chez les femelles, à la plus forte dose, sans relation dose réponse identifiable.

- Niveau de confiance dans le choix de l'étude clé :

Moyen : il s'agit d'une étude bien détaillée mais qui ne suit pas les lignes directrice et ne précise pas le respect des bonnes pratiques de laboratoire. Le nombre d'animaux par dose est important. Les écarts entre les doses de l'essai sont cependant assez élevés, et un nombre important d'animaux sont morts au cours de l'étude.

- Niveau de confiance dans le choix de la dose critique :

Moyen : aucune relation dose réponse n'est identifiable. Une BMD n'a pas pu être construite, mais un NOAEL a pu être identifié.

Le niveau de confiance global pour cette VTR est donc **moyen**.

Les rapports ont été validés à l'unanimité par les experts présents (16 experts présents).

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 « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » qui portent sur l'élaboration de valeurs référence par voie orale pour les 4 perfluorés évalués.

Concernant le PFBA et le PFHxS, considérant les doutes existant sur le choix de l'effet critique et son caractère néfaste, le choix a été fait de construire une Valeur Toxicologique Indicative (VTi). Une VTi est construite par l'Anses lorsque toutes les conditions nécessaires à la construction d'une VTR ne sont pas réunies (insuffisance des données, doute sur le caractère néfaste de l'effet et/ou contraintes de temps et/ou de ressources). Cette approche pragmatique vise à répondre de façon transitoire à l'objectif de l'évaluation des risques sanitaires dans l'attente de données

qualitatives et/ou quantitatives suffisantes, et peut donc contribuer à répondre aux attentes des gestionnaires de risque en présence de situations d'exposition documentées. Cette VTi ne peut être utilisée que pour répondre à une situation et un contexte spécifiques qui ont justifié sa construction.

PFBA :

Effet critique (étude clé)	Concentration critique	UF	Valeur de référence
Effets hépatiques Butenhoff <i>et al.</i> , 2012	NOAEL = 6 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> NOAEL _{HED} = 1,764 mg/kg/j	75 UF _A : 2,5 UF _D : 1 UF _H : 10 UF _L : 1 UF _S : 3	VTi = 0,024 mg/kg/j

PFHxS :

Effet critique (étude clé)	Concentration critique	UF	Valeur de référence
Effets hépatiques Butenhoff <i>et al.</i> , 2009	NOAEL = 1 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> NOAEL _{HED} = 0,289 mg/kg/j	75 UF _A : 2,5 UF _D : 1 UF _H : 10 UF _L : 1 UF _S : 3	VTi = 0,004 mg/kg/j

Pour le PFBS et le PFHxA, des VTR ont été construites :

PFBS :

Effet critique (étude clé)	Concentration critique	UF	Valeur de référence
Effets rénaux (Hyperplasie tubulaire) Lieder <i>et al.</i> , 2009b	BMD _{10%} L _{95%} = 24 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique :</u> BMD _{10%} L _{95%} HED = 6,06 mg/kg/j	75 UF _A : 2,5 UF _D : 1 UF _H : 10 UF _L : 1 UF _S : 3	VTR = 0,08 mg/kg/j
			Niveau de confiance Moyen

PFHxA :

Effet critique (étude clé)	Concentration critique	UF	Valeur de référence
Effets rénaux (Nécrose papillaire et dégénérescence tubulaire) Klaunig <i>et al.</i> , 2015	NOAEL = 30 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique :</u> NOAEL _{HED} = 7,91 mg/kg/j	25 UF _A : 2,5 UF _D : 1 UF _H : 10 UF _L : 1 UF _S : 1	VTR = 0,32 mg/kg/j
			Niveau de confiance Moyen

Dr Roger GENET

MOTS-CLÉS

Valeur toxicologique de référence, VTR, Voie orale, chronique, Valeur Toxicologique Indicative, VTi, Acide perfluorobutanoïque, PFBA, Acide perfluorobutane sulfonique, PFBS, Acide perfluorohexanoïque, PFHxA, Acide perfluorohexane sulfonique, PFHxS
Toxicological reference value, TRV, Perfluorobutyrate, Perfluorobutane sulfonate, Perfluorohexanoic acid, Perfluorohexane sulfonate, oral route, chronic

BIBLIOGRAPHIE

Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), (2015a) Valeurs toxicologiques de référence (VTR), Guide d'élaboration de VTR.

Anses, (2015b). RAPPORT de l'Anses sur les perfluorés. TOME 1: Connaissances relatives à la réglementation, à l'identification, aux propriétés chimiques, à la production et aux usages des composés de la famille des perfluorés ; TOME 2: Connaissances relatives aux données de contamination et aux expositions par des composés de la famille des perfluorés ; TOME 3: Connaissances relatives aux données de toxicité sur les composés de la famille des perfluorés.

Butenhoff J.L., Chang S.-C., Ehresman D. J., York R.G., (2009) Evaluation of potential reproductive and developmental toxicity of potassium perfluorohexanesulfonate in Sprague Dawley rats. *Reproductive Toxicology* 27 pp 331–341

Butenhoff J L., Bjorkb J A., Chang S-C, Ehresman D J., Parker G A., Das K, Lau C, Lieder P H., van Otterdijke F M., Wallace K B. (2012) Toxicological evaluation of ammonium perfluorobutyrate in rats: Twenty-eight-day and ninety-day oral gavage studies. *Reproductive Toxicology* 33, 513–530

Chengelis C. P., Kirkpatrick J. B., Radovsky A., Shinohar M. (2009) A 90-day repeated dose oral (gavage) toxicity study of perfluorohexanoic acid (PFHxA) in rats (with functional observational battery and motor activity determinations). *Reproductive Toxicology* 27 342–351.

European Food Safety Authority (EFSA) (2008) Perfluorooctane sulfonate (PFOS), perfluorooctanoic acid (PFOA) and their salts. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain (Question No EFSA-Q-2004-163). *The EFSA Journal* 653, 1-131

EFSA Scientific Committee, Hardy A, Benford D, Halldorsson T, Jeger MJ, Knutsen KH, More S, Mortensen A, Naegeli H, Noteborn H, Ockleford C, Ricci A, Rychen G, Silano V, Solecki R, Turck D, Aerts M, Bodin L, Davis A, Edler L, Gundert-Remy U, Sand S, Slob W, Bottex B, Abrahantes JC, Marques DC, Kass G and Schlatter JR, 2017. Update: Guidance on the use of the benchmark dose approach in risk assessment. *EFSA Journal* 2017;15(1):4658, 41 pp. doi:10.2903/j.efsa.2017.4658

Foreman J E., Chang S-C, Ehresman D J., Butenhoff J L., Anderson C R., Palkar P S., Kang B-H, Gonzalez F J., Peters J M. (2009). Differential Hepatic Effects of Perfluorobutyrate Mediated by Mouse and Human PPAR- α . *Toxicological Sciences* 110(1), 204–211

Hall AP., Elcombe CR., Foster JR., Harada T., Kaufmann W., Knippel A., Kuttler K., Malarkey DE., Maronpot RR., Nishikawa A., Nolte T., Schulte A., Strauss V., York MJ. (2012) Liver Hypertrophy:

A Review of Adaptive (Adverse and Non-adverse) Changes - Conclusions from the 3rd International ESTP Expert Workshop. *Toxicologic Pathology*, 40: 971-994.

Klaunig J. E., Shinohara M., Iwai H., Chengelis C. P., Kirkpatrick J. B., Wang Z. And Bruner R. H. (2015). Evaluation of the Chronic Toxicity and Carcinogenicity of Perfluorohexanoic Acid (PFHxA) in Sprague-Dawley Rats. *Toxicologic Pathology*, 43: 209-220.

Lieder P.H., Chang S-C., York R.G., Butenhoff J.L. (2009a) Toxicological evaluation of potassium perfluorobutanesulfonate in a 90-day oral gavage study with Sprague–Dawley rats. *Toxicology* 255; pp 45–52

Lieder P.H., York R.G., Hakes D.C., Chang S-C., Butenhoff J.L. (2009b) A two-generation oral gavage reproduction study with potassium perfluorobutanesulfonate (K+PFBS) in Sprague Dawley rats. *Toxicology* 259; pp 33–45

Lynch C., Pan Y., Li L., Heyward S., Moeller T., Swaan PW., Wang H. (2014) Activation of the Constitutive Androstane Receptor Inhibits Gluconeogenesis without Affecting Lipogenesis or Fatty Acid Synthesis in Human Hepatocytes. *Toxicol Appl Pharmacol.* ; 279(1): 33–42

Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2010) WHO Human Health Risk Assessment Toolkit: Chemical Hazards. IPCS harmonization project document no. 8. (OMS, Genève) 87p.

United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA) (2002) Hepatocellular hypertrophy. HED guidance document #G2002.01. Technical Report.

U.S. EPA (2016a) Health Effects Support Document for Perfluorooctanoic Acid (PFOA). EPA Document Number: 822-R-16-003

U.S. EPA (2016b) Health Effects Support Document for Perfluorooctane Sulfonate (PFOS). EPA Document Number: 822-R-16-002

Yang H., Wang H. (2014) Signaling control of the constitutive androstane receptor (CAR). *Protein Cell*, 5(2):113–123

Valeurs toxicologiques de référence (VTR)

**Elaboration de VTR chronique par voie orale pour l'acide perfluorohexane
sulfonique (PFHxS)
(CAS n°355-46-4)**

Mission permanente « Valeurs toxicologiques de référence »

**Saisine « 2015-SA-0128 »
Saisine liée « 2009-SA-0331 »**

RAPPORT d'expertise collective

**Comité d'experts spécialisé
« Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de
référence »**

Février 2017

Mots clés

Valeur Toxicologique de Référence, VTR, Valeur Toxicologique Indicative, VTi, acide perfluorohexane sulfonique, PFHxS, voie orale, chronique,

Toxicological Reference Value, TRV, Indicative Toxicological Value, iTV, Perfluorohexane sulfonate, oral route, chronic

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : 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.

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

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

- CES « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » – 11 juin 2015, 14 janvier, 15 septembre, 20 octobre, 9 décembre 2016 et 23 février 2017

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 – Epidémiologiste retraitée de l'Institut de Veille Sanitaire

M. François CLINARD – Epidémiologiste 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 – Pharmacien toxicologue, ERT, retraité de l'INRS

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

RAPPORTEURS

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

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

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

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

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Aurélie MATHIEU-HUART – Chef de projets scientifiques – Anses

Mme Pauline GUILLOU – Chargée de projet scientifique – Anses

Contribution scientifique

Mme Pauline GUILLOU – Chargée de projet scientifique – Anses

Secrétariat administratif

Mme Séverine BOIX-PETRE – Anses

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Sigles et abréviations	8
Liste des tableaux.....	10
1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine.....	11
1.1 Contexte.....	11
1.2 Objet de la saisine.....	12
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation.....	12
1.4 Prévention des risques de conflit d'intérêt	13
2 Informations générales.....	14
2.1 Identification de la substance	14
2.2 Propriétés physico-chimiques	14
3 Synthèse des données toxicologiques.....	15
3.1 Toxicocinétique.....	15
3.2 Toxicité aiguë	15
3.3 Irritation	15
3.4 Sensibilisation.....	15
3.4.1 Données chez l'Homme.....	15
3.5 Toxicité subchronique et chronique	16
3.5.1 Données chez l'Homme.....	16
3.5.1.1 Effets hépatiques.....	16
3.5.1.2 Effets thyroïdiens.....	17
3.5.1.3 Effets respiratoires	20
3.5.1.4 Effets immunologiques	21
3.5.1.5 Effets rénaux	22
3.5.2 Données chez l'animal.....	22
3.5.2.1 Effets hépatiques.....	22
3.5.2.2 Effets thyroïdiens.....	23
3.5.2.3 Effets hématologiques et biochimiques	23
3.6 Effets sur la reproduction et le développement.....	23
3.6.1 Données chez l'Homme.....	23
3.6.2 Données chez l'animal.....	29
3.7 Génotoxicité	30

3.8	Cancérogénicité	30
3.9	Mécanismes d'action	30
3.10	Populations sensibles	31
4	Recueil des valeurs toxicologiques de référence	32
5	Proposition de VTR chronique par inhalation	33
5.1	Choix de l'effet critique	33
5.2	Construction de VTR	34
5.2.1	Choix de l'étude clé.....	34
5.2.2	Choix de la dose critique.....	34
5.2.3	Ajustements	34
5.2.4	Choix des facteurs d'incertitude.....	34
5.2.5	Proposition de VTi chronique par ingestion	35
6	Conclusions du CES	36
7	Bibliographie	37

Sigles et abréviations

Anses	Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation environnement travail
ALP	Phosphatase alcaline
Anses	Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation environnement travail
BMD	Benchmark Dose
BMDL	Limite inférieure de l'intervalle de confiance de la benchmark dose
CES	Comité d'Experts Spécialisé
CETP	Cholesterylester Transfer Protein (= Protéine de transfert des esters de cholestérol)
ESTP	European Society of Toxicologic Pathology
FSH	Follicle Stimulating Hormone (= Hormone folliculo-stimulante)
ft3	Triiodothyronine libre
ft4	Thyroxine libre
GD	Gestation Day (= jour de gestation)
HDL	High Density Lipoprotein (= Lipoprotéine de haute densité)
HED	Human Equivalent Dose (= Dose équivalente humaine)
IgE	Immunoglobuline E
IMC	Indice de Masse Corporelle
IPCS	International Programme on Chemical Safety
LH	Luteinizing hormone (= Hormone Lutéinisante)
LD	Limite de Détection
LDL	Low Density Lipoprotein (= Lipoprotéine de basse densité)
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level (= Dose minimale entraînant un effet néfaste observé)
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level (= Dose maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé)
OCDE	Organisation de coopération et de développement économiques
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PND	Post Natal Day
PFBA	Acide perfluorobutanoïque
PFBS	Acide perfluorobutane sulfonique
PFDA	Acide perfluorodécanoïque
PFDoA	Acide perfluorododécanoïque
PFHpA	Acide perfluoroheptanoïque
PFHxA	Acide perfluorohexanoïque
PFHxS	Acide perfluorohexane sulfonique
PFNA	Acide perfluorononanoïque
PFOA	Acide perfluorooctanoïque
PFOS	Sulfonate de perfluorooctane

PFTA	Acide perfluorotetradecanoïque
PFUnDA	Acide perfluoroundécanoïque
SD	Standard Deviation
SGA	Small for gestational age (= petite taille par rapport à l'âge gestationnel)
SHBG	Sex Hormone-Binding Globulin (= globuline liant les hormones sexuelles)
T3	Triiodothyronine
T4	Thyroxine
TG	Triglycérides
TSH	Thyroid-Stimulating Hormone (= Thyréostimuline)
TT3	Triiodothyronine totale
TT4	Thyroxine totale
UF	Uncertainty Factor (= Facteur d'incertitude)
UF _A	Facteur d'incertitude inter-espèces
UF _D	Facteur d'incertitude au manque de données
UF _H	Facteur d'incertitude interindividuel
UF _{H-TK}	Composante toxicocinétique du facteur d'incertitude interindividuel
UF _{H-TD}	Composante toxicodynamique du facteur d'incertitude interindividuel
UF _L	Facteur d'incertitude lié à l'utilisation d'un LOAEL ou d'une BMD
UF _S	Facteur d'incertitude lié à la transposition subchronique à chronique
U.S. EPA	United States Environmental Protection Agency (États-Unis)
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
VTi	Valeur Toxicologique Indicative
VTR	Valeur Toxicologique de Référence

Liste des tableaux

Tableau 1 : Identification de la substance	14
Tableau 2 : Propriétés physicochimiques	14
Tableau 3 : VTi chronique par voie orale pour le PFHxS	36

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, 2015a).

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.

Une valeur toxicologique indicative (VTi) est un repère toxicologique pouvant être utilisé pour l'évaluation d'un risque.

Une VTi pourra être proposée lorsque les conditions nécessaires à l'élaboration d'une VTR ne sont pas remplies et qu'une évaluation quantitative de risque sanitaire (EQRS) est nécessaire dans un contexte d'exposition donné :

1. en cas d'**insuffisance des données** disponibles sur la substance pour caractériser le danger de la substance ou de **doute sur l'adversité de l'effet**. Dans ce cas, une veille bibliographique sera menée par l'Anses sur ces substances en vue de remplacer les valeurs toxicologiques indicatives par des VTR si de nouvelles données le permettent ;
2. en cas de **contraintes de temps et/ou de ressources**. Dans ce cas, la valeur toxicologique indicative serait élaborée au mieux dans le temps imparti, puis un travail complémentaire sera le cas échéant réalisé afin de proposer une VTR.

Il s'agit d'une valeur indicative moins robuste que la VTR présentant ainsi un niveau de confiance faible.

Sur la base de l'approche OMS/IPCS proposant une démarche par étapes pour l'évaluation des risques sanitaires dont la première étape consiste en une évaluation préliminaire (screening), la VTi pourra être utilisée pour écarter un risque dans une approche d'évaluation de risque de premier niveau (conservatrice) (OMS-IPCS, 2010).

A la différence d'une VTR, une VTi ne devrait être utilisée que dans le contexte qui l'a vu naître. Les conditions d'application devront donc être clairement explicitées pour chacune des VTi proposées. Comme pour les VTR, l'utilisation et l'interprétation des VTi devront obligatoirement tenir compte de la voie d'exposition, de la durée d'exposition, de la période d'exposition, du type d'effet auquel elle est associée et de la population destinée à être protégée.

Une VTi est élaborée en suivant les mêmes étapes qu'une VTR.

Les VTi ne seront pas publiées sur le site de l'Anses indépendamment des évaluations du risque simplifiées qui auront justifié leur élaboration.

1.2 Objet de la saisine

Ce travail fait suite aux travaux de l'Agence sur les perfluorés ayant donné lieu à un rapport publié en 2015 (Anses, 2015b), réalisé dans le cadre de la saisine de la Direction générale de la santé de juin 2009 relative aux substances reprotoxiques et/ou perturbatrices endocriniennes (PE) (Saisine «n° 2009-SA-0331»).

Parmi l'ensemble de ces molécules, ce rapport a permis de mettre en évidence 4 perfluorés prioritaires : l'acide perfluorobutanoïque (PFBA), l'acide perfluorobutane sulfonique (PFBS), l'acide perfluorohexanoïque (PFHxA) et le sulfonate de perfluorohexane (PFHxS). Cette sélection s'est faite selon plusieurs critères dont le statut réglementaire (REACH et réglementation sectorielle), le corpus de données disponibles pour chacun des composés, l'utilisation et l'évolution de l'utilisation des composés, les valeurs de référence déjà disponibles etc... Ces 4 perfluorés ont donc fait l'objet de travaux distincts dans l'objectif de leur attribuer des VTR.

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

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

Les travaux d'expertise des rapporteurs ont été soumis régulièrement au CES (tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques). Le rapport produit par les rapporteurs 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

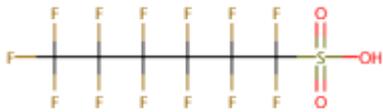
L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

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

2 Informations générales

2.1 Identification de la substance

Tableau 1 : Identification de la substance

Nom	Acide perfluorohexane sulfonique
Numéro CAS	355-46-4
Numéro EINECS	206-587-1
Synonymes	PFHxS
Formule	

2.2 Propriétés physico-chimiques

Tableau 2 : Propriétés physicochimiques

Masse molaire	400,12
T° ébullition	238,5 (toxnet)

3 Synthèse des données toxicologiques

3.1 Toxicocinétique

Aucune donnée sur la toxicocinétique du PFHxS n'est disponible.

3.2 Toxicité aiguë

Aucune donnée sur la toxicité aiguë du PFHxS n'est disponible.

3.3 Irritation

Aucune donnée sur le potentiel irritant du PFHxS n'est disponible.

3.4 Sensibilisation

3.4.1 Données chez l'Homme

L'étude de Wang *et al.* (2011) est une étude de cohorte prospective sur la dermatite atopique à l'âge de 2 ans qui a inclus 244 enfants (dont 43 souffraient de dermatite atopique) issus de la Taïwan Birth Panel Cohort Study. Ils ont été recrutés au cours de la grossesse de leur mère. Quatre composés fluorés ont été dosés dans le sérum sanguin (PFOS, PFOA, PFNA et PFHxS). Les données ont été analysées en utilisant un modèle de régression linéaire avec ajustement sur une vingtaine de paramètres relatifs à la mère, à l'enfant ou à son environnement. Aucune corrélation significative n'a été mise en évidence entre les composés fluorés dosés et les IgE sériques à l'âge de 2 ans. Les niveaux de PFOA et PFOS étaient corrélés positivement au taux d'IgE du sang de cordon uniquement chez les garçons et pour la seule analyse où les composés fluorés étaient étudiés de manière continue (par opposition à l'analyse en quantiles). L'analyse en quantile et celle en données continue aboutissaient à des résultats différents.

Cette étude ne présente donc pas d'association claire entre composés fluorés et taux d'IgE.

L'étude de Buser & Scinicariello (2016) avait pour objectif d'investiguer la relation entre PFOS, PFOA, PFNA et PFHxS et le risque d'allergie alimentaire (sensibilisation mesurée par des taux d'IgE sériques et allergies alimentaires (auto-déclaration)) à partir des études transversales de surveillance NHANES des années 2005-2006 et 2007-2010 auprès de, respectivement, 637 et 701 adolescents (12-19 ans). Les données ont été analysées par régression logistique avec ajustement sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique, l'indice de masse corporel (IMC) et le tabagisme

mesuré par la cotinine sérique. Des résultats *a priori* contradictoires ont été retrouvés : PFOA, PFOS et PFHxS étaient positivement liés aux allergies alimentaires autodéclarées mais négativement associés au risque de sensibilisation allergique. Ces résultats doivent donc être pris avec précaution.

3.5 Toxicité subchronique et chronique

3.5.1 Données chez l'Homme

3.5.1.1 Effets hépatiques

L'étude de Fisher *et al.* (2013) avait pour but d'examiner les associations entre les niveaux de PFOA, PFOS et PFHxS du plasma et la fonction métabolique ainsi que le niveau plasmatique de lipides.

L'analyse porte sur 2700 personnes de plus de 18 ans ayant participé à l'enquête sur la force de travail (CHMS) cycle 1 (2007-2009). Il s'agit d'un échantillon de la population Canadienne représentatif pour la prévalence des pathologies égales à 10% chez les canadiens âgés de 6 à 79 ans.

Les paramètres de santé étudiés sont : le glucose, le HDL, le LDL et le cholestérol total, l'insuline et le syndrome métabolique défini comme l'existence d'au moins 3 des critères suivants :

- tour de taille > 102 (homme) ou 88 (femme),
- triglycérides $\geq 1,7$ mmol/L,
- HDL < 1 mmol/L (homme) ou 1,3 mmol/L (femme),
- pression artérielle systolique ≥ 130 et/ou p diastolique ≥ 85 mmHg ou prise de médicament,
- glycémie à jeun $\geq 5,6$ mmole/L

L'analyse est réalisée par régression linéaire et régression logistique pondérées pour tenir compte de la méthode d'échantillonnage à plusieurs niveaux. La régression logistique est effectuée avec âge et sexe forcés puis addition des variables associées aux problèmes de santé ($p < 0,15$) si les odds ratios augmentent de 10% ou plus. Une analyse sur quartiles d'exposition est également réalisée.

Les expositions aux PFOA (médiane = 2,46 $\mu\text{g/L}$) et au PFOS (médiane = 8,40 $\mu\text{g/L}$) sont plus basses que dans les études portant sur des travailleurs mais le niveau de PFHxS est plus élevé (médiane = 2,18 $\mu\text{g/L}$). On observe des corrélations, entre les concentrations des 3 perfluorés (max pour PFOA et PFOS).

Le PFHxS est associé significativement avec le cholestérol LDL, le cholestérol non LDL et avec le rapport HDL/cholestérol total à la fois dans les analyses pondérées et dans les analyses non pondérées. L'analyse sur quartiles montre des tendances avec le cholestérol total, le LDL et le cholestérol non LDL. Mais aucune association avec le glucose, l'insuline ou le syndrome métabolique n'a été mise en évidence.

L'étude de Wang *et al.* (2012) est une étude transversale sur le cholestérol sanguin qui a inclut 132 résidents vivants autour d'un complexe industriel chinois regroupant 27 usines de « fluorochimie » et 55 professionnels exposés aux composés fluorés. Neuf substances ont été dosées dans le sérum sanguin (PFOS, PFOA, PFHxS, PFNA, PFDA, PFBS, PFHpA, PFDoA et PFTA). Seul le PFOA a fait l'objet d'une analyse multivariée. Les auteurs expliquent ce choix par les valeurs élevées de PFOA mesurées (médiane à 284 ng/ml chez les résidents et 1635 ng/ml chez les travailleurs). Les auteurs ont noté que les niveaux d'exposition des travailleurs de cette étude étaient parmi les plus élevés au monde. Les concentrations de PFOA ont été analysées en utilisant un modèle de régression linéaire avec ajustement sur l'âge, la corpulence et la consommation d'alcool déclarée. Si l'association n'était pas significative chez les résidents, la concentration en PFOA était négativement corrélée avec le taux de cholestérol HDL comme avec le rapport HDL / LDL chez les professionnels. Les analyses en sous-groupes (âge, sexe) non présentées mais mentionnées par les auteurs sont cohérentes avec l'analyse principale chez les travailleurs.

3.5.1.2 Effets thyroïdiens

Le but de l'étude de Chan *et al.* (2011) était de vérifier si l'exposition aux PFOA, PFHxS et PFOS était associée ou non à l'hypothyroxinémie maternelle (définie par la T4 libre, fT4, abaissée alors que les concentrations de TSH sont normales) chez des femmes enceintes qui avaient eu un triple screening à 15 ou 20 semaines de grossesse. Les études animales montrent que certains perfluorés peuvent perturber l'homéostasie de l'hormone thyroïdienne. Cette pathologie maternelle aurait potentiellement des conséquences sur le développement du système nerveux des enfants.

L'étude est de type cas/témoins et exploite les données d'une cohorte de 974 femmes de l'Alberta, de plus de 18 ans qui avaient subi un triple test pour détecter la trisomie 18, la trisomie 21 (ou syndrome de Down) et le spina bifida ouvert entre le 12 décembre 2005 et le 22 juin 2006. Un critère d'inclusion de ces femmes est d'avoir donné naissance à un seul enfant sans malformation après 22 semaines ou plus de gestation.

Un total de 96 femmes atteintes d'hypothyroxinémie (concentrations en TSH normales sans trace d'hyperthyroïdie (0,15 à 4 mU/L) et T4 libre dans le 10^{ème} percentile le plus bas de la cohorte (\leq 8,8 pmol/L)) ont été comparées à 175 femmes « témoins » (concentrations en TSH normales sans trace d'hyperthyroïdie et T4 libre compris entre le 50^{ème} et le 90^{ème} percentile de l'échantillon soit 12 à 14,1 pmol/L). Les mesures de TSH et de T4 libre dans le sérum ont été effectuées par des méthodes classiques et la précision des mesures est faite en comparant à 3 mesures contrôles pour chacune des deux substances.

Des régressions logistiques conditionnelles ont été utilisées pour étudier l'effet des perfluorés sur l'existence d'hypothyroxinémie. Les concentrations en dessous de la limite de détection ont été remplacées par la moitié de cette valeur.

Les trois substances sont corrélées. Aucune association significative avec l'hypothyroxinémie n'est observée, même en forçant dans le modèle la présence des trois perfluorés. Des interactions à deux ou trois dimensions ont également été testées sans montrer d'association. L'analyse en

considérant des groupes d'exposition faible, moyenne et forte, ne montre pas non plus d'association. L'analyse en prenant en compte la somme des 3 perfluorés est aussi négative.

L'étude de Maisonnet *et al.* (2015) a pour but d'explorer les associations entre la testostérone totale et la concentration en SHBG à l'âge de 15 ans d'une part et les expositions prénatales à 4 perfluorés (PFOA, PFOS, PFHxS, PFNA) dans une population féminine. Elle est réalisée à partir de données extraites d'une cohorte constituée de 14 541 femmes enceintes de 3 districts de l'Avon (Royaume Uni) avec une date d'accouchement prévue entre avril 1991 et décembre 1992. Les enfants ont été suivis et participaient à une visite médicale à 15 ans.

Les données de Maisonnet *et al.* 2015 reprennent celles de l'étude cas-témoins au sein de la cohorte réalisée par Christensen *et al.* en 2011 (230 filles dont l'âge aux premières règles était >11,5 ans). Le croisement avec les données de la visite médicale à 15 ans aboutit à un échantillon de faible taille (72 filles). Des modèles linéaires généralisés ont été utilisés avec les perfluorés en variables continues et en tertiles.

Après ajustement, la testostérone totale était en moyenne significativement plus élevée de 0,18 nmol/L chez les filles dans le tertile le plus haut en PFOS prénatal que dans le plus bas. Il en était de même pour le PFOA ($\beta = 0,24$) et pour le PFHxS ($\beta = 0,18$). Aucune association n'est observée entre la testostérone totale et le PFNA ou entre aucun des perfluorés et le SHBG.

Les auteurs considèrent que l'exposition prénatale à certains perfluorés pourrait altérer les concentrations en testostérone chez les filles.

L'étude transversale de Lewis *et al.* (2015) avait pour objectif de vérifier l'existence d'associations entre les perfluorés mesurés dans le sérum sanguin et la testostérone totale du sérum (T), l'hormone TSH, la triiodothyronine libre et totale (fT3 et TT3) et la thyroxine libre et totale (fT4 et TT4) parmi les hommes et les femmes âgés de 12 à 80 ans de l'enquête NHANES 2011-2012 (échantillon représentatif de la population des Etats-Unis ne résidant pas en institution).

Pour chaque hormone et chaque perfluoré, elle procède par régression linéaire multiple ajustée sur l'âge, l'IMC, le PIR (poverty income ratio), l'éthnicité et la cotinine (variables associées aux PFAS et qui changent le coefficient β du modèle de plus de 10%). Les coefficients β ont été convertis en % de la concentration d'hormones correspondant à un doublement de la concentration en perfluorés. L'analyse a été stratifiée par sexe et âge. Une analyse avec les perfluorés en quartiles pour explorer une relation non linéaire a également été faite.

Dans la majorité des modèles ajustés, aucun effet sur les hormones thyroïdiennes n'est significatif à part les quelques observations suivantes : augmentation de fT3, TT3 et fT4 chez les femmes pendant l'adolescence, augmentation de la TSH chez les hommes et diminution chez les femmes. Aucune association significative n'est observée avec la testostérone.

Les auteurs considèrent que les résultats de l'étude suggèrent que l'exposition aux perfluorés pourrait altérer l'homéostasie des hormones thyroïdiennes.

Le but de l'étude de Wang *et al.* (2014) était d'étudier les liens entre l'exposition maternelle aux perfluorés et le statut hormonal thyroïdien de la femme enceinte et de son nouveau-né. Il s'agit d'une étude réalisée à partir des données d'une cohorte de femmes et d'enfants Taïwanais mise en place entre décembre 2000 et novembre 2001. Les échantillons sanguins de la mère sont recueillis au 3^{ème} trimestre de la grossesse. Les associations entre les hormones thyroïdiennes de la mère et du nouveau-né (mesurées dans le cordon) et 7 perfluorés sont testées par des modèles de régression linéaire.

Le PFHxS était associé positivement à la TSH maternelle. Les femmes enceintes avec des niveaux élevés de PFNA, PFUnDA, et PFDoA avaient moins de T4 et de T4 libre. Par exemple, diminution de T4 libre de 0,019 ng/dL pour chaque ng/mL de PFNA.

Les niveaux de PFNA, PFUnDA, et PFDoA étaient associés à des niveaux plus bas de T3 et de T4 dans le cordon et le PFDA était associé au T3 total du cordon.

Les résultats suggèrent que l'exposition à certains perfluorés pourrait interférer avec l'homéostasie des hormones thyroïdiennes à la fois des femmes enceintes et des fœtus.

Les objectifs de l'étude transversale de Yang *et al.* (2016) étaient :

- de déterminer s'il y a transfert de perfluorés de la mère à l'enfant *via* le placenta,
- de rechercher les associations potentielles entre les concentrations en perfluorés et les niveaux d'hormones thyroïdiennes dans le sérum de la mère et du cordon à la naissance de l'enfant.

Cette étude porte sur 157 paires mères-enfants d'une maternité de Pékin. Les participantes à l'étude étaient les mères volontaires tirées au sort parmi les femmes sans problèmes de thyroïde ou de maladie connue ayant donné naissance à un seul enfant. Les données étaient recueillies au moment de l'accouchement.

L'analyse a été conduite au moyen d'analyses de corrélations canoniques multivariées.

Sept perfluorés et 2 précurseurs de perfluorés ont été détectés à la fois dans le sérum maternel et dans celui du cordon avec des corrélations significatives et des ratios de transfert variant de 0,25 :1 pour le PFDA à 0,65 :1 pour le PFOA.

La TSH maternelle était corrélée négativement avec la plupart des perfluorés maternels ($r = -0,261$ à $-0,170$) et les hormones maternelles T3 et fT3 étaient corrélées négativement avec la plupart des perfluorés du fœtus ($r = -0,229$ à $-0,163$ pour T3 et $r = -0,293$ à $-0,169$ pour fT3).

Selon les auteurs, les résultats suggèrent une exposition prénatale aux perfluorés et une association potentielle entre les perfluorés et l'homéostasie des hormones thyroïdiennes chez l'Homme.

L'étude de Taylor *et al.* (2014) est une étude transversale sur la ménopause précoce qui a inclus 2732 femmes de plusieurs vagues (2003-4, 2005-6, 2007-8 et 2009-10) du programme NHANES. Quatre composés fluorés ont été dosés dans le sérum sanguin (PFOS, PFOA, PFNA, et PFHxS). Les données ont été analysées dans un modèle de risques proportionnels (analyse de survie

suivant la méthode de Cox) avec ajustements sur l'âge, l'ethnie, le nombre d'enfants, le degré d'éducation et le tabagisme. Les auteurs ont constaté une augmentation du risque de ménopause précoce avec les 4 composés dosés dont 3 d'entre eux présentaient une relation dose-effet (PFOA, PFNA, et PFHxS). Sachant que l'absence de menstruation est susceptible de favoriser l'accumulation de substances chimiques dans le sang, il n'est pas possible de savoir si ces composés fluorés étaient la cause ou la conséquence de la ménopause. Aucun mécanisme physiopathologique ne renforce l'hypothèse causale.

L'étude de Khalil *et al.* (2016) avait pour objectif d'investiguer la relation entre 4 perfluoroalkyles (PFOA, PFOS, PFHxS et PFNA) et le risque de déminéralisation osseuse et d'ostéoporose à partir de l'étude transversale de surveillance NHANES de 2009-2010. Elle a inclus 1914 personnes des deux sexes. La densité osseuse a été mesurée sur la tête fémorale, le fémur complet et le rachis par absorptiométrie à rayons X. L'ostéoporose était validée médicalement. Des modèles d'analyses de régressions linéaire en continue et par classe avec de nombreux ajustements ont été développés pour chaque perfluoroalkyle (log-transformé ou non). Chez les femmes non ménopausées, aucune association n'a été mise en évidence. Chez les femmes ménopausées, la concentration sérique en PFOS était significativement associée à une perte de densité osseuse, après log-transformation et en analyse par classe, pour le quartile le plus élevé. Le PFHxS n'était significatif que pour le 4^{ème} quartile dans l'analyse par classe. Le PFNA n'était significatif qu'après log-transformation.

En définitive, ces résultats restent très parcellaires et peu cohérents entre eux. Ces études ne permettant pas d'exclure l'apparition de résultats significatifs du simple fait du hasard en raison du nombre de tests réalisés.

3.5.1.3 Effets respiratoires

L'objectif principal de l'étude de Tao *et al.* (2008) était d'évaluer le niveau d'exposition aux perfluorés de policiers ayant exercé leur activité au voisinage du World Trade Center entre le 11 septembre et le 23 décembre 2001 et de voir si ces niveaux étaient liés au fait d'avoir des symptômes respiratoires.

L'étude repose sur les 458 échantillons sanguins de policiers ou de gardiens ayant travaillé dans le voisinage du World Trade Center entre le 11 septembre et le 23 décembre 2001. Ces travailleurs ont été classés en niveaux d'exposition aux poussières (+/-) et aux fumées (+/-). Huit perfluorés dont PFOS, PFOA, PFHxS et PFNA ont été mesurés dans le plasma sanguin, les prélèvements ayant été faits entre mai 2002 et décembre 2003

L'analyse compare différents groupes de personnes selon la présence ou non de symptômes, un niveau élevé ou non de poussières et de fumées.

Les concentrations en PFOA et PFHxS étaient deux fois plus élevées que celles rapportées pour la population générale des Etats-Unis. La concentration en PFHxS était significativement plus élevée dans le groupe exposé aux poussières que dans celui qui y était moins. Les concentrations en PFOA et en PFHxS chez les sujets exposés aux fumées étaient plus élevées que chez les

sujets exposés aux poussières mais aucune différence significative entre sujets symptomatiques et sujets asymptomatiques n'a été observée.

3.5.1.4 Effets immunologiques

L'étude de Mogensen *et al.* (2015) avait pour objectif principal d'établir des corrélations entre l'exposition à trois perfluorés (PFOA, PFOS, PFHxS) et les anticorps développés dans certaines vaccinations de l'enfance (diphtérie et tétanos). Les autres objectifs étaient de modéliser ces corrélations en utilisant des modèles permettant d'étudier les associations entre plusieurs expositions et plusieurs événements de santé en tenant compte des incertitudes sur l'exposition, des données manquantes et des variables de confusion. Cette étude porte sur 464 enfants d'une cohorte des îles Féroé établie entre 1997 et 2000. Les anticorps du tétanos et de la diphtérie sont mesurés à 5 ans et à 7 ans. Les perfluorés sont mesurés dans le sérum sanguin à 5 ans (avant le rappel) et à 7 ans.

Les analyses de base sont des régressions linéaires multiples séparées pour chaque perfluoré et chaque concentration en anticorps. Puis des modèles plus complexes ont été construits.

Les concentrations en perfluorés les plus élevées sont significativement associées aux concentrations les plus basses en anticorps : pour chaque doublement de perfluorés, on observe une diminution respectivement de 30% des anticorps de la diphtérie pour le PFOS et de 25,5% pour le PFOA. Pour les anticorps antitétaniques, c'est le PFHxS qui montre la plus grande diminution (22%). Il n'a pas été possible d'attribuer cette diminution générale à l'un des perfluorés étudiés. Du coup, les concentrations à 7 ans ont été combinées et montraient qu'un doublement de la concentration totale en perfluorés était associée à une diminution de 54,4% (IC_{95%} = 22%-73,3%) de la concentration en anticorps. Si on tient compte en plus des données mesurées à 5 ans, la diminution des anticorps est légèrement plus faible (51,8%, IC_{95%} = 24,6%-68,5%).

D'après les auteurs, cette étude renforce l'hypothèse d'un effet immunotoxique des perfluorés chez l'Homme à des niveaux d'exposition communément rencontrés.

L'étude de Humblet *et al.* (2014) avait pour objectif d'investiguer la relation entre 8 perfluoroalkyles et le risque d'asthme à partir des études transversales de surveillance NHANES des années 1999-2000 et 2003-2008. Les 1877 adolescents (12-19 ans) inclus ont renseigné leur statut asthmatique par autoquestionnaire (respiration sifflante, asthme passé, présent). Le lien a été exploré par un modèle de régression utilisant des splines avec ajustements sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique, le niveau de revenus, le tabagisme et le type d'assurance santé. Des résultats contradictoires ont été observés, avec des associations positives pour le PFOA et négatives pour le PFOS. Pour le PFOA, les résultats sont peu robustes. Le lien était significatif pour le PFOA pris comme variable continue mais non significatif lorsque le PFOA était considéré en tertiles.

3.5.1.5 Effets rénaux

L'étude de Watkins *et al.* (2013) est une étude transversale sur le fonctionnement rénal (estimé par le débit de filtration glomérulaire) de 9660 enfants âgés de 1 à 18 ans résidant à proximité d'une pollution de sol dans la vallée de la rivière Ohio. Cette pollution d'origine industrielle a donné lieu à une action judiciaire de groupe (« class action ») qui permet le financement de travaux épidémiologiques de grande ampleur coordonnés par les Prs Fletcher, Savitz et Steenland, le « C8 Health Project ». Les 4 composés fluorés d'intérêt pour cette étude (PFOS, PFOA, PFNA, et PFHxS) ont été dosés dans le sérum sanguin lors de l'inclusion (en même temps qu'était mesurée la créatinine sérique (2005-2006)). Des modélisations environnementales ont permis de reconstituer la pollution entre 1950 et 2004. Ces modélisations ont permis une estimation individuelle des expositions aux 4 composés fluorés dans l'eau du réseau. Les données ont été analysées dans un modèle de régression linéaire avec ajustements sur l'âge, le sexe, l'ethnie, le tabagisme, la corpulence, l'exercice physique, les revenus du foyer et certaines données maternelles (âge, tabagisme, degré d'éducation, corpulence et exercice physique).

Les concentrations mesurées en PFOS, PFOA, PFNA, et PFHxS à l'inclusion étaient négativement corrélées au débit de filtration glomérulaire (mesuré au même moment) alors que les concentrations en PFOS, PFOA, PFNA, et PFHxS estimées pour rendre compte de l'exposition passée ne l'étaient pas. Les auteurs ont discuté et finalement retenu l'hypothèse d'une cause inverse pour l'association constatée avec les mesures à l'inclusion : c'est l'altération de la fonction rénale qui amène à une augmentation sérique en PFOS, PFOA, PFNA, et PFHxS et non l'inverse.

3.5.2 Données chez l'animal

Tous les effets décrits ci-dessous proviennent d'une étude conduite selon les lignes directrices de l'OCDE 422 (test de toxicité par doses répétées combiné avec un test de toxicité sur la reproduction/développementale). Dix-huit rats Sprague Dawley par sexes ont été exposés par gavage à l'une des groupes de dose suivant : 0 ; 0,3 ; 1 ; 3 ; et 10 mg/kg/j. Les rats ont été exposés 14 jours avant la cohabitation, puis jusqu'à la veille du sacrifice, qui a eu lieu 42 ou 44 jours après pour les mâles, et à PND22 ou GD25 pour les femelles (Butenhoff *et al.*, 2009).

3.5.2.1 Effets hépatiques

Les effets hépatiques observés sont une augmentation statistiquement significative des poids absolu et relatif du foie chez les mâles aux deux plus fortes doses (+20 et 56% pour le poids absolu).

Uniquement chez les mâles aux mêmes doses, il est constaté une apparition d'hypertrophies hépatocellulaires (9/10 rats, 8 minimales, 1 légère à 3 mg/kg/j, et 10/10 rats, 4 minimales, 5 légères et 1 modérée à 10 mg/kg/j). Les hépatocytes centrolobulaires étaient élargis avec une quantité augmentée de cytoplasme granulaire éosinophile.

3.5.2.2 Effets thyroïdiens

Une augmentation statistiquement significative de l'incidence et de la sévérité des hypertrophies de l'épithélium folliculaire de la thyroïde ont été observées chez les mâles à 3 (4/10 rats, 2 minimales, 2 légères) et 10 mg/kg/j (7/10 rats, 3 légères, 4 modérées).

3.5.2.3 Effets hématologiques et biochimiques

Concernant les effets hématologiques et biochimiques, les effets observés dans l'étude le sont uniquement chez les mâles.

L'hématocrite et les hématies sont diminués de façon statistiquement significative à 3 et 10 mg/kg/j (6-8% environ pour les deux paramètres), alors que l'hémoglobine l'est dès 1 mg/kg/j (5-7%).

Le temps de prothrombine est augmenté significativement à 0,3; 3 et 10 mg/kg/j, sans qu'une relation dose-réponse soit observée.

L'albumine (5%), le ratio albumine/globuline (19%), l'urée (31%), la phosphatase alcaline (37%) et le calcium sont augmentés de façon statistiquement significative à 10 mg/kg/j.

Enfin, le cholestérol est diminué de façon statistiquement significative à toutes les doses (sans toutefois démontrer de dose réponse claire ; - 42% à 10 mg/kg/j). Les triglycérides sont diminués à la plus forte dose (- 68%).

3.6 Effets sur la reproduction et le développement

3.6.1 Données chez l'Homme

L'étude de Specht *et al.* (2012) explore les liens entre l'exposition environnementale aux perfluorés et l'intégrité de l'ADN du sperme. Elle porte sur 604 hommes fertiles provenant de 3 régions : Groenland, Pologne, Ukraine. Ils étaient recrutés au moment de la première visite ante natale de leur femme. Les futurs pères étaient interviewés sur leur mode de vie, leur histoire professionnelle et leur histoire reproductive. Une information concernant le tabagisme et le régime alimentaire de la période où le couple tentait la grossesse était également relevée. Cette étude a analysé les associations entre les concentrations sanguines en perfluorés et les dommages de l'ADN du sperme, les marqueurs apoptotiques et les hormones reproductives. Les niveaux des 4 expositions (PFOA, PFOS, PFNA et PFHxS) dans le sérum ont été divisés en tertiles dans chacune des 3 régions. Les variables expliquées (indice de fragmentation de l'ADN, positivité du test TUNEL, Fas, Bcl-xL, testostérone, œstradiol, inhibine B, FSH, LH et SHBG) ont été considérées comme des variables quantitatives. Toutes les analyses ont été stratifiées par région. Les variables confondantes suivantes ont été prises en compte : la période d'abstinence sexuelle, la consommation quotidienne de boissons à la caféine, la cotinine dans le sérum, l'âge, l'IMC, une fièvre dans les 3 mois, l'existence d'infections génitales, des désordres testiculaires. La consommation d'alcool était inconnue pour un trop grand nombre de sujets pour être prise en compte.

Les interactions entre le PFOS et l'âge, le statut tabagique au moment du début de grossesse, les niveaux de cotinine dans le sérum et le PFOA ont été ensuite examinées.

Les résultats de cette étude montrent que les concentrations dans le sérum des sept composés perfluorés diffèrent significativement selon les régions. La région où les concentrations sont le plus élevées est le Groenland. Le PFOS arrive en premier suivi du PFOA. On observe des corrélations élevées entre les divers perfluorés au niveau individuel. Aucune variation saisonnière n'est observée.

Aucune association entre le PFOS, le PFOA, le PFNA ou le PFHxS avec la fragmentation de l'ADN du sperme n'a été observée dans aucune des trois régions considérées, ni dans les analyses brutes ni dans les analyses ajustées sur les variables potentiellement confondantes. Le PFOA du sérum est associé à un pourcentage augmenté de cellules positives au test TUNEL chez les hommes du Groenland mais pas dans les deux autres régions. Les autres perfluorés ne sont pas associés à la positivité du test TUNEL.

Dans toutes les régions, plus la concentration sérique de PFOS est élevée, plus le pourcentage de cellules du sperme positives au test du marqueur pro-apoptique Fas est important, mais l'analyse globale incluant toutes les régions n'atteignait pas la significativité statistique.

Les concentrations sériques en PFOA sont associées à un SHGB plus élevé au Groenland et en Pologne. Les autres perfluorés ne sont pas reliés de façon cohérente selon les régions à la testostérone, à l'œstradiol et aux gonadotrophines.

Selon les auteurs, contrairement aux autres études qui s'intéressent à des hommes souffrant d'infertilité, cette étude est la première à étudier des hommes présentant tous les degrés de sous fécondité exception faite de la stérilité. Les résultats sont rassurants puisqu'ils ne montrent aucun effet adverse, exception faite d'une légère augmentation du % de cellules positives au test TUNEL et du SHBG avec le PFOA chez les hommes du Groenland.

L'étude de Christensen *et al.* (2011) avait pour objectif de vérifier s'il existait une association entre l'exposition aux perfluorés des mères pendant la grossesse et l'âge aux premières règles des filles issues de cette grossesse. L'hypothèse (issue des études animales) était que l'âge pourrait être abaissé en cas d'exposition.

La population étudiée est constituée des filles de mères faisant partie d'une cohorte de 14 541 femmes de l'Avon enceintes entre le 1/04/1991 et le 31/12/1991 (cohorte ALSPAC au Royaume Uni). Les enfants ont été suivis à 8, 9, 10-11 et 13 ans. L'échantillon étudié est constitué de 5756 filles (critères de sélection : un seul bébé, sexe féminin et au moins deux questionnaires entre 8 et 13 ans). Les cas sont au nombre de 218 (âge de premières règles <11,5 ans) et les témoins (n = 230) ont été tirés au sort parmi toutes les filles qui ne sont pas des cas. Huit perfluorés dont le PFHxS sont mesurés dans le sérum de la mère pendant la grossesse. Est choisi, en cas de mesures multiples le sérum le plus ancien.

L'analyse statistique est effectuée par une régression logistique soit sur mesures continues soit sur variables dichotomisées (\geq médiane des cas) pour chaque perfluoré et pour le total. Un modèle linéaire portant sur les facteurs confondants potentiels a permis d'introduire dans la régression

logistique ceux qui étaient liés à la fois aux perfluorés et à l'âge aux premières règles (critères d'inclusion : $p < 30\%$). Les facteurs de confusion pris en compte sont : IMC de la mère avant la grossesse (<18,5 ; 18,5-24,9 et ≥ 30), âge de la mère à l'accouchement < 20 ; 20-29 ; ≥ 30), âge de la mère aux premières règles (8-11 ; 12-14; ≥ 15), niveau d'éducation (4 niveaux) et classe sociale de la mère, rang de l'enfant dans la fratrie (3 classes), couleur de peau de l'enfant (blanc ou non).

On observe une association inverse entre la concentration totale et le rang de naissance mais aucune association significative entre chacun des 7 perfluorés et un abaissement de l'âge des premières règles ni sur les variables continues ni sur les variables dichotomisées.

L'étude de Maisonnet *et al.* (2012) avait pour objectif d'explorer les associations entre les concentrations maternelles sériques en perfluorés (PFOA, PFOS, PFHxS) pendant la grossesse et le développement foetal et postnatal de bébés Britanniques de sexe féminin.

L'échantillon étudié est celui établi pour l'étude cas/témoins de Christensen *et al.* portant sur l'âge aux premières règles des filles de mères exposées (voir ci-dessus). Il s'agit de filles de mères faisant partie d'une cohorte de 14 000 femmes de l'Avon enceintes entre le 1/04/1991 et le 31/12/1991 (cohorte ALSPAC au Royaume Uni). Les cas sont au nombre de 218 (âge de premières règles <11,5 ans) et les témoins ($n = 230$) ont été tirés au sort parmi toutes les filles qui ne sont pas des cas. Pour contrebalancer les effets du design de sélection des cas et des témoins, une pondération a été attribuée aux cas (1) et aux témoins (15,1).

L'analyse elle-même est de type analyse de cohorte.

Les paramètres étudiés sont le poids et la taille à la naissance, l'âge gestationnel, le poids et la taille à 2, 9 et 20 mois, l'index pondéral calculé par la formule suivante : poids (en g)/ taille (en cm) x 100. Les poids ont été convertis en poids standardisés sur l'âge (z-scores) calculés en utilisant les courbes de croissance de la population des filles Britanniques de 1990 comme référence. Les perfluorés (PFOA, PFOS et PFHxS) sont mesurés dans le sérum de la mère pendant la grossesse. En cas de mesures multiples le sérum le plus ancien est choisi.

Pour chaque paramètre de développement, période et perfluoré, il a été fait une régression linéaire pondérée.

La première étape est l'élimination des facteurs confondants potentiels (seuil retenu : $p < 0,20$)

- l'analyse des poids à la naissance et à 20 mois a été faite en considérant les variables d'exposition en variables ordinales codées 0, 1, 2.
- Une étude de l'influence sur les résultats de l'absence des données sur l'IMC avant la grossesse et le tabagisme maternel a été faite (en excluant les filles concernées). Elle montre que l'exclusion des valeurs manquantes pourrait introduire un biais. Par conséquent, des catégories « variable manquante » ont été incluses dans l'analyse de la croissance foetale et post-natale.
- Des modèles linéaires mixtes ont été utilisés pour l'analyse longitudinale du poids en incluant les 410 filles qui ont 3 ou 4 mesures du poids. La variable « temps » est le mois où le poids a été mesuré.

Les mesures de PFOA et de PFOS sont très corrélées. La corrélation est beaucoup plus modérée entre PFHxS et d'une part le PFOA et d'autre part le PFOS.

- Poids de naissance : Les filles dont l'exposition maternelle au PFOS est dans le tertile le plus haut ont 140 grammes de moins à la naissance que celles dans le tertile le plus bas (ajustement sur l'âge gestationnel, l'IMC avant grossesse, l'existence d'une naissance précédente et le tabagisme maternel). On observe le même type de résultats pour le PFOA et le PFHxS (- 108 g, 95% CI : [-206—10])
- Taille à la naissance : même type de résultats pour le PFOS et le PFHxS mais pas pour le PFOA.
- Age gestationnel et index pondéral : aucune association n'est retrouvée avec les 3 perfluorés.
- Poids à 20 mois : aucune association n'est retrouvée pour le PFOA et le PFHxS.

D'une manière globale, l'influence de ces substances sur le développement des enfants semble très modérée.

L'étude de Hamm *et al.* (2010) avait pour objectif de vérifier si l'exposition maternelle au PFOA, au PFOS et au PFHxS mesurés pendant le début du 2^{ème} trimestre de grossesse avait un effet adverse sur le développement du fœtus et sur le moment de l'accouchement.

Les données sont extraites d'une cohorte de 252 femmes enceintes pendant les années 2005-2006 et qui ont fait un screening à 15 ou 16 semaines de grossesse pour le syndrome de Down, la trisomie 18 et le spina-bifida dans la cité d'Edmonton au Canada. Elles ont plus de 18 ans, ont donné naissance à un seul enfant sans malformation après plus de 22 semaines de grossesse.

Les perfluorés sont mesurés par la méthode de chromatographie liquide avec spectrométrie de masse (LD = 0,25 ng/mL valeurs <LD remplacées par LD/2).

PFOA : de <LD à 18 ng/mL médiane : 1,5 ng/mL

PFHxS : de <LD à 43 ng/mL médiane : 0,97 ng/mL

PFOS : de <LD à 35 ng/mL médiane : 7,8 ng/mL

Les paramètres de santé étudiés sont le poids à la naissance, le z score du poids à la naissance, la notion de poids petit par rapport à l'âge gestationnel (SGA) (< 10^{ème} percentile), la durée de gestation (en semaines depuis les dernières règles) et la prématurité (22-36 semaines de grossesse). Les données proviennent des certificats de naissance (programme périnatal de l'Alberta).

Les méthodes statistiques utilisées sont : la régression linéaire pour le poids à la naissance et le z score (standardisé par sexe et âge gestationnel), la régression de Poisson pour le SGA et la naissance prématurée. Les perfluorés sont considérés dans ces modèles comme des variables continues quantitatives (transformées par le log népérien) ou en classes (tertiles).

Toutes les analyses sont négatives sauf un risque diminué de SGA dans le tertile le plus élevé de PFOS et un risque de naissance prématurée diminué dans le tertile le plus élevé.

L'étude de Joensen *et al.* (2009) avait pour but de vérifier si des niveaux élevés de perfluorés sanguins (PFOS, PFOA, et PFHxS principalement) étaient associés ou non à des niveaux bas de testostérone et négativement associés aux valeurs décrivant la qualité du sperme.

L'étude de type transversal porte sur 105 hommes de la région de Copenhague extraits d'une cohorte de 546 jeunes hommes faisant leur service militaire en 2003. Cinquante-trois ont les plus hauts niveaux de testostérone de la cohorte et 52 les plus faibles valeurs.

Médianes des concentrations sanguines :

- PFOS : 24,5 ng/mL
- PFOA : 4,9 ng/mL
- PFHxS : 6,6 ng/mL

Après une comparaison des hormones de reproduction et des perfluorés entre les deux groupes de sujets, une régression linéaire sur l'ensemble des 105 sujets a été faite pour décrire les associations entre perfluorés et hormones ainsi que celles avec les variables décrivant le sperme (étude des différentes variables pour 1 ng/mL de PFOA et de PFOS). Enfin, une régression linéaire a été faite pour les hormones de reproduction et les variables décrivant le sperme sur les classes de PFOA et de PFOS combinés de la façon suivante : attribution d'un score de 1 à 4 dans chaque quartile de chaque produit. Après addition de ces scores (variant de 2 à 8), les sujets sont classés en 3 groupes : score total = 2-3, score total = 4-6, score total = 7-8.

La plus grande partie de l'analyse porte sur le PFOA et le PFOS. Il n'y a aucun résultat sur le PFHxS.

L'étude de Pennings *et al.* (2016) avait pour but d'examiner les liens entre une exposition prénatale aux perfluorés, en particulier aux perfluorés à chaînes longues et une immunosuppression dans la petite enfance en identifiant des profils toxico-génomiques communs. Elle s'appuie sur les données d'une cohorte Norvégienne étudiant la mère et l'enfant, créée en 2006 (cohorte BraMat). Les prélèvements sanguins maternels sont effectués jusqu'à 3 jours après la délivrance. Quatre perfluorés sont étudiés : PFOA, PFOS, PFNA, PFHxS. Les événements de santé sont les niveaux d'anticorps anti-rubéole mesurés chez l'enfant à 3 ans (dans le cadre de la campagne de vaccination) et le nombre de rhumes de la naissance à 3 ans ainsi que les profils transcriptomiques dans le sang du cordon.

L'analyse a consisté en une comparaison séparée des données de la « microarray » à la substance d'exposition et aux paramètres immunes (épisodes de rhume et anticorps de la rubéole), suivie par l'identification des gènes et des voies. Le nombre d'échantillons disponibles était différent selon les comparaisons (66 pour la comparaison « microarray-Perfluorés, 73 pour « microarray-épisodes de rhume », 58 pour « microarray- niveaux anti-rubéole »).

Les analyses ont identifié un profil toxicogénétique de 52 gènes associés aux perfluorés en commun avec les gènes associés aux anticorps de la rubéole et/ou avec des épisodes de rhume.

Cet ensemble comprend plusieurs gènes immuno-modulateurs (CYTL1, IL27) ainsi que d'autres gènes associés au système immunitaire (EMR4P, SHC4, ADORA2A).

De plus cette analyse a permis d'identifier PPAR δ comme un marqueur des perfluorés toxicogénomiques qui peut servir dans des études épidémiologiques ou mécanistiques. Elle fournit des connexions transcriptomiques entre l'exposition prénatale aux perfluorés et une fonction immunitaire altérée dans la petite enfance et va dans le sens des vues actuelles sur les modes d'action du PPAR- et du NF- κ B

D'après les auteurs, les résultats renforcent l'idée que l'exposition prénatale aux perfluorés induit une immunotoxicité chez l'Homme, et incitent à renforcer les lois pour supprimer l'usage de ces substances.

L'étude de Toft *et al.*, 2012 est une étude transversale (INUENDO) sur la qualité du sperme qui a inclut 588 hommes de 3 pays (Pologne, Ukraine et Suède). Quatre composés fluorés ont été dosés dans le sérum sanguin (PFOS, PFOA, PFNA, et PFHxS). Les mesures moyennes de PFOS et PFOA variaient fortement d'un pays à l'autre. Les données ont été analysées dans un modèle de régression linéaire généralisée avec ajustements sur le pays, l'âge, la durée d'abstinence, les pertes nocturnes, le tabagisme, les infections uro-génitales et la corpulence. L'analyse n'a pas mis en évidence d'association entre les composés fluorés et la qualité du sperme.

L'étude de Vestergaard *et al.* (2012) est une étude de cohorte prospective sur « le temps mis pour concevoir » (nombre de cycles depuis l'arrêt du contrôle de la fertilité jusqu'à la grossesse) qui a inclut 222 femmes primipares d'une cohorte de 430 couples danois volontaires (issus d'un mailing envoyé à 52 255 membres d'un syndicat). Huit composés fluorés ont été dosés dans le sérum sanguin (PFOS, PFOA, PFNA, PFHxS, PFDA, MeFOSAA, EtFOSAA et FOSA). Les données ont été analysées en utilisant des modèles de régression logistique et des modèles de survie. Les analyses principales (reg. logistique) ont été ajustées sur l'âge, la corpulence, le tabagisme, la durée des cycles, les pathologies altérant la fécondité chez la femme et l'oligospermie chez l'homme. Les concentrations sériques en composés mesurés ne différaient pas selon « le temps mis pour concevoir ».

L'étude de cohorte de Ashley-Martin *et al.* (2016) a mesuré la croissance de poids gestationnel au 2^{ème} et 3^{ème} trimestre de grossesse chez 1723 femmes incluses au premier trimestre. Trois perfluoroalkyles (PFOA, PFOS et PFHxS) ont été dosés dans le sang du cordon. L'analyse statistique (régression linéaire) a montré qu'un doublement du PFOS était associé à une augmentation modeste de la croissance de poids gestationnel après divers ajustements (parité, âge et IMC maternel, revenus). Le tabagisme peu important dans cette cohorte de femmes enceintes ne modifiait pas la relation obtenu entre la concentration en PFOS et le gain de poids gestationnel. L'étude est limitée par l'absence de prise en compte de l'alimentation et les auteurs précisent que l'augmentation du volume plasmatique au cours de la grossesse a pu diluer les concentrations en perfluoroalkyles. Au final, cette étude ne permet pas à elle seule d'affirmer que

le PFOS modifie la dynamique de croissance de poids gestationnel. Aucun effet n'a été observé avec le PFOA et le PFHxS.

L'étude de Braun *et al.* (2016) a été réalisée à partir de l'étude HOME, une cohorte prospective construite pour examiner l'impact de substances chimiques lors d'une exposition au début de la vie. Parmi 390 enfants nés de grossesse unipare, 222 (57%) ont pu être examinés à l'âge de 8 ans (mesures de la taille, de l'index de masse corporelle et de la masse grasseuse). Les perfluoroalkyles (PFOA, PFOS, PFHxS, PFNA) sériques avaient été dosés chez les mères à 16 semaines de grossesse. Un modèle de régression polynomial utilisant des splines a été construit, avec de nombreux ajustements (caractéristiques de la mère, du logement, tabagisme, consommation de fruits, légumes et poissons au cours de la grossesse, supplémentation vitaminique). La concentration en PFOA était positivement associée aux trois paramètres physiologiques mesurés mais la relation n'était pas monotone : Elle était plus forte sous le 50^e percentile de PFOA et diminuait au dessus. PFOS, PFHxS et PFNA n'étaient pas liés aux paramètres physiologiques étudiés.

L'étude de Lee *et al.* (2016) avait pour objectif de rechercher un lien entre les concentrations de 9 perfluoroalkyles et le poids de naissance dans une étude transversale réalisée auprès de 118 femmes césariées. Les perfluoroalkyles ont été mesurés dans le sang du cordon ombilical. L'analyse a fait appel à un modèle de régression linéaire multiple avec quelques ajustements sur l'âge de la mère, l'âge gestationnel, le sexe de l'enfant et les gynécologues investigateurs. De nombreux facteurs confondants n'ont pas été pris en compte comme le IMC maternel, les caractéristiques socio-économiques, le régime alimentaire, etc...

Aucun lien n'a été observé entre les concentrations en perfluoroalkyles et le poids de naissance.

3.6.2 Données chez l'animal

L'étude de Butenhoff *et al.* (2009) n'a pas mis en évidence d'effets sur la reproduction ou le développement des petits.

Dans une étude récente de neurodéveloppement, des souris juvéniles NMRI ont été exposées à l'acide perfluorohexane sulfonique (PFHxS) par gavage (Viberg *et al.*, 2013). La souris NMRI (fond génétique SWISS) possède un système immunitaire peu sollicité. Par conséquent, cette souche, très sensible à toute contamination. Une exposition unique aux doses de 0,61 ; 6,1 et 9,2 mg/kg/j a été réalisée à PND10. Les signes cliniques par examen visuel, l'évolution du poids corporel à PND10, PND28-30 et 5 mois après l'exposition, ainsi que les comportements spontanés 2 mois et 4 mois après l'exposition ont été étudiés. Pour ces derniers, l'activité locomotrice, le comportement de redressement, ainsi que l'activité totale ont été mesurés. Les examens à 2 mois ont été réalisés sur 12 males et 12 femelles provenant de 3-4 litières différentes et ceux à 4 mois sur 14-18 males

et femelles. L'action de la nicotine sur les comportements induits par le PFHxS a également été étudiée le jour du test après injection de 80 µg/kg de nicotine

Aucun symptôme clinique en lien avec une exposition au PFHxS n'a été rapporté, ni de modification du poids corporel. Concernant les effets comportementaux, des modifications allant dans le sens d'une altération du phénomène d'habituation sont observées. Les auteurs considèrent que ces effets sont durables dans le temps. Dans cette étude, la nicotine augmente les activités de locomotion, de redressement, ainsi que l'activité totale chez les souris exposées aux doses de 0,61 et 6,1 mg/kg/j. Par contre, elle n'a pas d'effet chez les souris traitées à la dose de 9,2 mg/kg de PFHxS/j. Ces résultats suggèrent une action du PFHxS sur le système cholinergique.

Cette étude, même si elle est bien décrite présente un certain nombre de limites méthodologiques. Elle ne suit par exemple pas la ligne directrice OCDE 426 qui préconise de prendre un animal par portée et d'avoir au minimum 10 portées. Dans cette étude, il y a seulement 3 portées et tous les animaux de chaque portée ont été sélectionnés, ce qui est discutable méthodologiquement. L'étude ne précise pas non plus si les souris ont été testées « en aveugle ». La nicotine agit sur le système cholinergique mais active aussi d'autres systèmes (dopamine); or cela n'a pas été investigué dans cette étude. De même, les effets sur la cognition (apprentissage, mémoire) n'ont pas été explorés. Les résultats de cette étude sont donc discutables. Les effets apparaissent de toute façon à des doses élevées, supérieures aux doses journalières d'exposition définies dans les précédents travaux de l'Anses sur les perfluorés (2015b).

3.7 Génotoxicité

Aucune donnée sur la génotoxicité du PFHxS n'est disponible.

3.8 Cancérogénicité

Aucune donnée sur la cancérogénicité du PFHxS n'est disponible.

3.9 Mécanismes d'action

Une étude a regardé plus en détail les effets hépatiques du PFHxS afin d'essayer de mettre en évidence le mécanisme d'action de la molécule (Bijland *et al.*, 2011).

Des souris E3L.CETP mâles (dyslipidémiques) ont reçu environ 6 mg/kg/j de PFHxS pendant 4 à 6 semaines (nombre d'animaux par groupe non précisé).

En cohérence avec l'étude de Butenhoff *et al.* (2009), il est observé une diminution des triglycérides (59%) et du cholestérol total (67%)¹. Cette diminution du cholestérol total est associée à une diminution des HDL (-62%) et des apoA1 (-76%), et des non-HDL (-68%)

Il a également été observé une réduction de 61% de la 1/2 vie plasmatique du VLDL. Cette réduction est probablement liée à une activité lipolitique puisqu'il est noté une augmentation de l'activité de la LPL de 74%. La diminution des VLDL-TG plasmatique semble également associée à une diminution de la production de ces lipoprotéines, puisque la production des VLDL-TG est diminuée de 74%, et celle des VLDL-apoB de 76%.

Les auteurs ont également noté une augmentation du poids du foie (110%) et du contenu hépatique en triglycéride (52%). Cela irait dans le sens d'une diminution des VLDL-TG due à un problème de sécrétion hépatique plus qu'à une réduction des lipides disponibles.

Une autre conséquence de la diminution des VLDL-TG est la diminution du poids de la graisse périgonadale (28%), des acides gras plasmatiques (41%) et du glycérol plasmatique (50%).

Il est également observé une diminution de l'excrétion des acides biliaires (41%).

Enfin, de la même façon que pour les VLDL, il est noté une diminution de la 1/2 vie du HDL (33%). Cependant, il est également observé une diminution de la clairance du HDL-C (48%), qui semble s'expliquer par une diminution de la masse plasmatique de CETP (36%). La diminution des HDL s'expliquerait donc uniquement par une diminution de la production.

3.10 Populations sensibles

Aucune donnée existante à ce jour concernant d'éventuelles populations sensibles au PFHxS.

¹ Les modifications des paramètres mentionnées pour cette étude sont toutes statistiquement significatives.

4 Recueil des valeurs toxicologiques de référence

Aucune VTR n'a été construite à ce jour pour le PFHxS.

5 Proposition de VTR chronique par inhalation

5.1 Choix de l'effet critique

De nombreuses études chez l'Homme sont disponibles pour évaluer la toxicité du PFHxS, mais ne permettent pas de dériver de valeur de référence. De plus, à ce jour seule une étude expérimentale (Etude de toxicité par doses répétées combiné avec un test de toxicité sur la reproduction/tox développementale (OCDE 422)) permet d'évaluer ce composé (Butenhoff *et al.*, 2009). Elle a mis en évidence les effets suivants :

- **Effets thyroïdiens** : Une augmentation des hypertrophies/hyperplasies thyroïdiennes est observée. Selon les auteurs, elle serait la conséquence de l'hypertrophie hépatique. Cependant, l'absence de test statistique et de dosages hormonaux ne permet pas d'étayer cet argument mécanistique. Sans confirmation du mécanisme d'action, l'hypertrophie thyroïdienne apparaît trop peu robuste pour pouvoir construire une valeur de référence.
- **Effets hépatiques** : Une augmentation des poids absolu et relatif du foie aux deux plus fortes doses (+ 20 et 56% pour le poids absolu, pas de données pour les poids relatifs) associée à des hypertrophies hépatocellulaires (9/10 rats, 8 minimales, 1 légère à 3 mg/kg/j et 10/10 rats, 4 minimales, 5 légères et 1 moyenne à 10 mg/kg/j) est observée. Une augmentation statistiquement significative de la phosphatase alcaline (ALP) (+ 37%) est observée à 10 mg/kg/j. Une augmentation statistiquement significative de l'albumine (5%) et du ratio albumine/globuline (19%), ainsi qu'une diminution du cholestérol (- 42%) et des triglycérides (- 68%) sont également observées à la plus forte dose, bien que la signification toxicologique de ces modifications soit discutable.

Selon les documents de l'U.S. EPA (2002) et de l'ESTP (Hall *et al.* 2012), lors d'une hypertrophie hépatocytaire, en l'absence de modifications histologiques, des preuves de dommages hépatocytaires caractérisés par une modification dose dépendante, biologiquement significative et cohérente d'au moins 2 paramètres hépatiques sont nécessaires pour caractériser un effet néfaste sur le foie. Ces conditions ne sont donc pas remplies dans le cas présent. Selon ces critères, les effets hépatiques ne devraient donc pas être considérés comme néfastes.

Néanmoins, bien que pris indépendamment les uns des autres, aucun ne soit suffisant pour construire une VTR (ampleur de la réponse) ou soit totalement transposable à l'Homme, de nombreux effets (hypertrophie et signes fonctionnels) liés aux métabolismes hépatique et lipidique sont observés suite à une exposition au PFHxS. Par ailleurs, il apparaît également nécessaire de prendre en compte dans cette analyse les connaissances existantes sur l'ensemble de la famille des perfluorés, et notamment les deux composés les plus étudiés de cette famille, à savoir le PFOS et le PFOA. Une toxicité hépatique clairement établie pour ces deux composés, allant jusqu'à l'apparition d'adénomes hépatocytaires chez l'animal, ne peut pas être exclue chez l'Homme (EFSA, 2008 ; U.S. EPA, 2016a, 2016b).

Au regard de tous ces éléments, le CES a décidé de retenir les effets hépatiques comme effet critique. Considérant les doutes existant sur le choix de l'effet critique et son adversité, il a été fait le choix de construire une VTi pour le PFHxS.

5.2 Construction de VTR

5.2.1 Choix de l'étude clé

Pour ce composé, de nombreuses épidémiologiques sont disponibles. Cependant, aucune d'entre elle ne permet de construire une VTR.

Une seule étude expérimentale est disponible pour la construction d'une VTi (Butenhoff *et al.*, 2009). Elle suit les lignes directrices OCDE 422 (Étude combinée de toxicité à doses répétées et de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement), et a donc été retenue comme étude clé.

5.2.2 Choix de la dose critique

Au regard de l'ensemble des effets apparaissant à 3 mg/kg/j dans cette étude (augmentation statistiquement significative du poids absolu et relatif du foie, hypertrophie hépatocellulaire chez 9 rats sur 10), cette dose a été considérée comme le LOAEL.

Le NOAEL, dose directement inférieure dans l'étude de 1 mg/kg/j est donc retenue comme dose critique.

5.2.3 Ajustements

Dans le but de réduire la valeur de l'incertitude due à la variabilité inter-espèce lors de la détermination d'une dose équivalente humaine, un ajustement allométrique a été réalisé, selon l'équation suivante :

$$\text{Dose équivalente humaine} = \text{Dose animal} \times \left(\frac{\text{Poids animal}}{\text{Poids Homme}} \right)^{1/4}$$
$$\text{NOAEL}_{\text{Dose équivalent humaine}} = 1,0 \text{ mg / kg / j} \times \left(\frac{0,490 \text{ kg}}{70 \text{ kg}} \right)^{1/4} = 0,289 \text{ mg / kg / j}$$

5.2.4 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTi à partir du NOAEL_{HED} a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2015a) :

- Variabilité inter-espèces (UF_A) : 2,5
- L'ajustement allométrique réalisé a permis de calculer une dose équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5.

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : 10

Aucune donnée scientifique permettant de réduire la valeur par défaut n'étant disponible, la valeur de 10 est utilisée.

- Transposition subchronique à chronique (UF_S) : 3

Dans l'étude de Butenhoff *et al.* (2009), les rats mâles ont été exposés au minimum 42 jours. En conséquence, il a été considéré pertinent d'appliquer un UF_S de 3.

- Utilisation d'une BMDL, d'un LOAEL ou d'un NOAEL/ $(UF_{B/L})$: 1

La construction de la VTR est basée ici sur un NOAEL, un $UF_{B/L}$ spécifique n'est pas nécessaire.

- Insuffisance des données (UF_D) : 1

Une seule étude expérimentale est disponible pour évaluer la toxicité du PFHxS, mais elle combine la toxicité par doses répétées et la reproduction/toxicité développementale. De plus, de nombreuses études chez l'Homme sont disponibles sur ce composé. En conséquence, le CES a considéré qu'un UF_D n'était pas nécessaire.

Un facteur d'incertitude global de **75** est donc utilisé pour la construction de la VTi du PFHxS.

5.2.5 Proposition de VTi chronique par ingestion

$$VTi = \frac{0,289 \text{ mg/kg/j}}{75} = 0,0038 \cong \mathbf{0,004 \text{ mg/kg/j}}$$

6 Conclusions du CES

Une VTi chronique par voie orale est proposée pour le PFHxS (Erreur ! Source du renvoi introuvable.).

Tableau 3 : VTi chronique par voie orale pour le PFHxS

Effet critique (étude clé)	Concentration critique	UF	Valeur de référence
Effets hépatiques Butenhoff <i>et al.</i> , 2009	NOAEL = 1 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> NOAEL _{HED} = 0,289 mg/kg/j	75 UF _A : 2,5 UF _D : 1 UF _H : 10 UF _L : 1 UF _S : 3	VTi = 0,004 mg/kg/j

Date de validation du rapport d'expertise collective par le comité d'experts spécialisé : le 23/02/2017.

Signature :

Maisons-Alfort, le _____,

Au nom des experts du CES

« Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence »,

M Guerbet

Président du CES

7 Bibliographie

Agence française de normalisation (AFNOR), Qualité en expertise - Prescriptions générales de compétence pour une expertise. Norme française NF X 50-110, Mai 2003.

Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), (2015a) Valeurs toxicologiques de référence (VTR), Guide d'élaboration de VTR.

Anses, (2015b). RAPPORT de l'Anses sur les perfluorés. TOME 1: Connaissances relatives à la réglementation, à l'identification, aux propriétés chimiques, à la production et aux usages des composés de la famille des perfluorés ; TOME 2: Connaissances relatives aux données de contamination et aux expositions par des composés de la famille des perfluorés ; TOME 3: Connaissances relatives aux données de toxicité sur les composés de la famille des perfluorés.

Ashley-Martin J., Dodds L., Arbuckle T., Morisset A.-S., Fisher M., Bouchard M., Shapiro G.D., Ettinger A.S., Monnier P., Dallaire R., Taback S., Fraser W., 2016. Maternal and Neonatal Levels of Perfluoroalkyl Substances in Relation to Gestational Weight Gain. *Int J Environ Res Public Health* 13(1):146.

Bijland S., Rensen P.C.N., Pieterman E.J., Maas A.C.E., van der Hoorn J.W., van Erk Ma.J., Havekes L.M., van Dijk K.W., Chang S.-C., Ehresman D.J., Butenhoff J.L., and Princen H.M.G. (2011) Perfluoroalkyl Sulfonates Cause Alkyl Chain Length-Dependent Hepatic Steatosis and Hypolipidemia Mainly by Impairing Lipoprotein Production in APOE*3-Leiden CETP Mice. *Toxicological Sciences* 123(1), pp. 290–303

Braun J.M., Chen A., Romano M.E., Calafat A.M., Webster G.M., Yolton K., Lanphear B.P. 2016. Prenatal perfluoroalkyl substance exposure and child adiposity at 8 years of age: The HOME study: Prenatal PFAS Exposure and Child Adiposity. *Obesity* 24(1):231-7.

Buser M.C., Scinicariello F. 2016. Perfluoroalkyl substances and food allergies in adolescents. *Environ Int* 88:74-9.

Butenhoff J.L., Chang S.-C., Ehresman D. J., York R.G., (2009) Evaluation of potential reproductive and developmental toxicity of potassium perfluorohexanesulfonate in Sprague Dawley rats. *Reproductive Toxicology* 27 pp 331–341

Chan E, Burstyn I, Cherry N, Bamforth F, Martin JW. Perfluorinated acids and hypothyroxinemia in pregnant women.(2011) *Environmental Research* 111 : 559-564.

Christensen KY, Maisonet M, Rubin C, Holmes A, Calafat AM, Kato K, Flanders, WD, Heron J, Mc Geehin M, Marcus M. (2011). Exposure to polyfluoroalkylchemicals during pregnancy is not associated with offspring age at menarche in a contemporary British cohort. *Environment international* 37 :129-135.

European Food Safety Authority (EFSA) (2008) Perfluorooctane sulfonate (PFOS), perfluorooctanoic acid (PFOA) and their salts. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain (Question No EFSA-Q-2004-163). *The EFSA Journal* 653, 1-131

- Fan H, Ducatman A, Zhang J. Perfluorocarbons and Gilbert syndrome (phenotype) in the C8 Health Study Population. *Environ Res.* nov 2014;135:70-5.
- Fisher M, Arbuckle TE, Wade M, Haines DA. (2013). Do perfluoroalkyl substances affect metabolic function and plasma lipids ?- Analysis of the 2007-2009 Canadian Health Measures Study (CHMS) Cycle 1. *Environmental Research* 121:95-103.
- Hall AP., Elcombe CR., Foster JR., Harada T., Kaufmann W., Knippel A., Kuttler K., Malarkey DE., Maronpot RR., Nishikawa A., Nolte T., Schulte A., Strauss V., York MJ. (2012) Liver Hypertrophy: A Review of Adaptive (Adverse and Non-adverse) Changes - Conclusions from the 3rd International ESTP Expert Workshop. *Toxicologic Pathology*, 40: 971-994.
- Hamm MP, Cherry NM, Chan E, Martin JW, and Burstyn I (2010). Maternal exposure to perfluorinated acids and fetal growth. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology* 20:589-597.
- Humblet O., Diaz-Ramirez L.G., Balmes J.R., Pinney S.M., Hiatt R.A. 2014. Perfluoroalkyl chemicals and asthma among children 12–19 years of age: NHANES (1999–2008). *Environ Health Perspect* 122:1129–1133;
- Joensen UN, Bossi R, Leffers H, Jensen AA, SkaKKeboek NE, Jorgensen N. (2009). Do perfluoroalkyl compounds impair human semen quality ? *Environmental Health Perspectives* Vol 117 :923 -927
- Khalil N., Chen A., Lee M., Czerwinski S.A., Ebert J.R., DeWitt J.C., Kannan K. 2016. Association of perfluoroalkyl substances, bone mineral density, and osteoporosis in the U.S. population in NHANES 2009–2010. *Environ Health Perspect* 124:81–87
- Lee E.S., Han S., Oh J.E. 2016. Association between perfluorinated compound concentrations in cord serum and birth weight using multiple regression models. *Reprod Toxicol* 59:53-9.
- Lewis R.C., Johns L.E., Meeker J.D. 2015. Serum biomarkers of exposure to perfluoroalkyl substances in relation to serum testosterone and measure of thyroid function among adults and adolescents from NHANES 2011-2012. *Int J Environ Res Public Health* 12 :6098-6114
- Maisonet M, Terell ML, McGeehin MA, Christensen KY, Holmes A, Calafat AM, Marcus M. (2012). Maternal concentrations of polyfluoroalkyl compounds during pregnancy and fetal and postnatal growth in British girls. *Environmental Health perspectives* 120:1432-1437.
- Maisonet M., Calafat A.M., Marcus M., Jaakkola J.J., Lashen H. 2015. Prenatal exposure to perfluoroalkyl acids and serum testosterone concentrations at 15 years of age in female ALSPAC study participants. *Environ Health Perspect* 123:1325–1330;
- Mogensen U.B., Grandjean P., Heilmann C., Nielsen F., Weihe P., Budtz-Jørgensen E. 2015. Structural equation modeling of immunotoxicity associated with exposure to perfluorinated alkylates. *Environmental Health* (14) :47-57
- Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2010) WHO Human Health Risk Assessment Toolkit: Chemical Hazards. IPCS harmonization project document no. 8. (OMS, Genève) 87p.
- Pennings J.L.A., Jennen D.G.J., Nygaard U.C., Namork E., Haug L.S., van Loveren H., Granum B. 2016. Cord blood gene expression supports that prenatal exposure to perfluoroalkyl substances

causes depressed immune function in early childhood. *J Immunotoxicol*;13 (2) :173-180

Specht I.O., Hougaard K.S., Spanò M., Bizzaro D., Manicardi G.C., Lindh C.H., Toft G., Jönsson B.A., Giwercman A., Bonde J.P. (2012) Sperm DNA integrity in relation to exposure to environmental perfluoroalkyl substances – A study of spouses of pregnant women in three geographical regions. [Reprod Toxicol](#). 33(4):577-83.

Tao L, Kannan K, Aldous K, Mauer MP, Eadon GA. (2008). Biomonitoring of perfluorochemicals in plasma of New York State personnel responding to the World Trade Center Disaster. *Environmental Science & Technology*.vol 22 N°9 42: 3472-78.

Taylor K.W., Hoffman K., Thayer K.A., Daniels J.L. 2014. Polyfluoroalkyl chemicals and menopause among women 20-65 years of age (NHANES). *Environ Health Perspect*. 122(2):145-50.

Toft G., Jönsson B. a. G., Lindh C.H., Giwercman A., Spano M., Heederik D., Lenters V., Vermeulen R., Rylander L., Pedersen H.S., Ludwicki J.K., Zvezdai V., Bonde J.P. 2012. Exposure to perfluorinated compounds and human semen quality in Arctic and European populations. *Hum Reprod Oxf Engl* 27(8):2532-40.

United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA) (2002) Hepatocellular hypertrophy. HED guidance document #G2002.01. Technical Report.

U.S. EPA (2016a) Health Effects Support Document for Perfluorooctanoic Acid (PFOA). EPA Document Number: 822-R-16-003

U.S. EPA (2016b) Health Effects Support Document for Perfluorooctane Sulfonate (PFOS). EPA Document Number: 822-R-16-002

Vestergaard S., Nielsen F., Andersson A.M., Hjöllund N.H., Grandjean P., Andersen H.R., Jensen T. K. (2012) Association between perfluorinated compounds and time to pregnancy in a prospective cohort of Danish couples attempting to conceive. *Human Reproduction*, Vol.27, No.3 pp. 873–880

Viberg H, Lee I, Eriksson P. (2013) Adult dose-dependent behavioral and cognitive disturbances after a single neonatal PFHxS dose. *Toxicology*. 2013 Feb 8;304:185-91.

Wang I.J., Hsieh W.S., Chen C.Y., Fletcher T., Lien G.W., Chiang H.L., Chiang C.F., Wu T.N., Chen P.C. 2011. The effect of prenatal perfluorinated chemicals exposures on pediatric atopy. *Environ Res* 111(6):785-91.

Wang J., Zhang Y., Zhang W., Jin Y., Dai J. 2012. Association of Perfluorooctanoic Acid with HDL Cholesterol and Circulating miR-26b and miR-199–3p in Workers of a Fluorochemical Plant and Nearby Residents. *Environ Sci Technol* 46(17):9274-81.

Wang Y., Rogan W.J., Chen P.C., Lien G.W., Chen H.Y., Tseng Y.C., Longnecker M.P., Wang S.L. 2014. Association between maternal serum perfluoroalkyl substances during pregnancy and maternal and cord thyroid hormones: Taiwan Maternal and Infant Cohort Study. *Environ Health Perspect* 122:529–534

Watkins DJ, Josson J, Elston B, Bartell SM, Shin H-M, Vieira VM, et al. 2013. Exposure to Perfluoroalkyl Acids and Markers of Kidney Function among Children and Adolescents Living near a Chemical Plant. *Environ Health Perspect.* 11 mars 2013;121(5):625-30.

Yang L., Li J., Lai J., Luan H., Cai Z., Wang Y., Zhao Y., Wu Y. 2016. Placental transfer of perfluoroalkyl substances and associations with thyroid hormones : Beijing prenatal exposure study. *Scientific reports* DOI : 10.1038/srep21699

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)