



ENSP
ECOLE NATIONALE DE
LA SANTE PUBLIQUE

RENNES

Ingénieurs du génie sanitaire

Promotion 2005

ATELIER SANTE ENVIRONNEMENT

**Approche d'évaluation de toxicité des
organoétains en mélange**

Présenté par :

Emilie BERTRAND

Delphine GIRARD

Adeline SAVY

Référent pédagogique:

Denis BARD

Sommaire

INTRODUCTION.....	1
1 NATURE ET TOXICITE DES ORGANOETAINS.....	3
1.1 Structures chimiques et propriétés.....	3
1.2 Sources et usages des composés organométalliques issus de l'étain.....	5
1.3 Modes d'actions et effets sur l'organisme.....	6
1.3.1 Toxicocinétique.....	7
1.3.2 Toxicodynamique.....	9
1.3.3 Effets toxiques.....	10
1.4 Conclusion.....	11
2 LE RISQUE ASSOCIE AUX ORGANOETAINS : PRESENTATION ET DISCUSSION DU DOCUMENT REDIGE PAR L'AUTORITE EUROPEENNE DE SECURITE DES ALIMENTS (EFSA).....	13
2.1 Description du document établi par l'EFSA.....	13
2.1.1 Présentation de l'EFSA.....	13
2.1.2 Résumé du rapport de l'EFSA.....	13
2.2 Discussion et critiques.....	15
2.2.1 Le raisonnement en « masse d'étain ».....	15
2.2.2 Abus de langage quant à l'utilisation des sigles pour les congénères.....	17
2.2.3 Conclusion.....	18
3 LA METHODE DES FACTEURS D'EQUIVALENCE DE TOXICITE.....	19
3.1 Présentation générale de la méthode.....	19
3.1.1 Objectif de la méthode.....	19
3.1.2 Principe.....	19
3.1.3 Hypothèses quant à l'utilisation de la méthode.....	20
3.2 Possibilité d'appliquer la méthode des TEF aux organoétains.....	20
3.2.1 Structure chimiquement proche.....	21
3.2.2 Mode d'action commun.....	21
3.2.3 Effets similaires.....	23
3.2.4 Persistance et accumulation dans la chaîne alimentaire.....	26
3.2.5 Conclusion.....	28

3.3	Application de la méthode des TEF aux organoétains	29
3.3.1	Intérêt d'une approche TEF	29
3.3.2	Mise en évidence de l'effet critique	32
3.3.3	Classement relatif des congénères	33
3.3.4	Modélisation d'une approche TEF.....	35
4	DISCUSSION	37
4.1	Incertitudes	37
4.1.1	Incertitudes liées aux études toxicologiques	37
4.1.2	Incertitudes spécifiques à la méthode des TEF	38
4.2	Comparaison entre la méthode TEF et la méthode de l'EFSA	39
4.2.1	Exemple de calculs	39
4.2.2	Commentaires.....	40
	CONCLUSION	43
	BIBLIOGRAPHIE	45
	LISTE DES ANNEXES	I

Table des tableaux

TABLEAU 1 : CONCENTRATIONS D'ORGANOETAINS DETECTES DANS LE SANG HUMAIN	8
TABLEAU 2 : ESPECES LES PLUS CONCERNES PAR LA TOXICITE DE DIFFERENTS TRIORGANOETAINS	10
TABLEAU 3 : EFFETS DE CHAQUE FAMILLE DE CONGENERES	24
TABLEAU 4 : PERSISTANCE DES ORGANOETAINS DANS L'ENVIRONNEMENT	28
TABLEAU 5 : TOXICITE DES ORGANOETAINS	30
TABLEAU 6 : INFLUENCE DE LA LIAISON ORGANIQUE. VALEURS TOXICOLOGIQUES POUR LE DBTCL ₂ ET LE DOTCL ₂ EXPRIMEES EN MG SN/KG PC	31
TABLEAU 7 : INFLUENCE DU NOMBRE DE SUBSTITUTION ORGANIQUES. VALEURS TOXICOLOGIQUES POUR LE TBT ET DBT EXPRIMEES EN MG SN/KG PC.....	31
TABLEAU 8 : INFLUENCE DE LA LIAISON NON ORGANIQUE. VALEURS TOXICOLOGIQUES POUR LE TBT ET LE TPT EXPRIME EN MG SN/KG PC	32
TABLEAU 9 : ETUDES PORTANT SUR L'IMMUNOTOXICITE	33
TABLEAU 10 : TOXICITE DES ORGANOETAINS RETENUS DANS L'ETUDE.....	33
TABLEAU 11 : TOXICITE DES ORGANOETAINS RETENUS DANS L'ETUDE EXPRIMEE EN MASSE D'ETAIN	34
TABLEAU 12 : COEFFICIENTS DE TOXICITE DE LA METHODE TEF	36
TABLEAU 13 : TENEURS EN ORGANOETAINS	39
TABLEAU 14 : TEQ POUR L'IMMUNOTOXICITE ET LA TOXICITE SUR LE DEVELOPPEMENT	40

Table des figures

FIGURE 1 : EXEMPLES DE STRUCTURES D'ORGANOETAINS	3
FIGURE 2 : MODELISATION DE LA DISTRIBUTION DES BUTYLETAINS.....	5
FIGURE 3 : STRUCTURE SEMI DEVELOPEE DU TBTO	16
FIGURE 4 : STRUCTURE SEMI DEVELOPEE DU TBTCL.....	16
FIGURE 5 : STRUCTURE SEMI-DEVELOPEE D'UN ORGANOETAIN TRIBUTYL SUBSTITUE	17
FIGURE 6 : SUBSTITUTIONS ORGANIQUES POSSIBLES.....	21
FIGURE 7 : TOXICITE DES ORGANOETAINS.....	35

Liste des sigles utilisés

DBT	Dibutylétain
DJA	Dose Journalière Admissible
DL50	Dose Létale à 50%
DOT	Diocetylétain
ECCO	European Cancer Conference
EFSA	Autorité Européenne de Sécurité Alimentaire
LOAEL	Low Observed Adverse Effect Level, i.e. dose minimale entraînant un effet observé (DMEO)
MDT/DMT	Monométhylétain/diméthylétain
MMT/DDT	Mono- n-dodecylétain/di-n-dodecylétain
MOT	Mono-octylétain
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level, i.e. dose sans effet observé (DSEO)
OTC	Organotin Compounds, i.e. organoétains
TBT	Tributylétain
TBTO	Oxyde de tributylétain
TEF	Toxicity Equivalent Factor, i.e. facteurs d'équivalence de toxicité
TPT	Triphénylétain
TPTOH	Triphenylhydroxyde
US EPA	Environmental Protection Agency of United States

INTRODUCTION

Les composés organostanniques ou organoétains sont des substances chimiques toxiques principalement utilisées dans les peintures antisalissures appliquées sur les coques des bateaux. Ces peintures de revêtement visent à empêcher le développement des algues, des mollusques et d'autres organismes qui freinent l'avance rapide des navires. Les organoétains sont également utilisés dans l'industrie du plastique et du PVC. Ces composés ne sont considérés comme des polluants du milieu marin que depuis le début des années 1980. En effet, de graves problèmes ont été mis en évidence, notamment sur le développement des huîtres dans la Baie d'Arcachon. Les peintures sont donc interdites par tous les états membres (directive 1999/51/CEE) et sur tous les bateaux circulant sur les eaux intérieures (lacs, rivières, canaux) depuis le 1er septembre 2000.

Les sources de contamination sont principalement anthropiques : les organoétains présents dans l'environnement sont des dérivés de l'étain inorganique, lui-même issu de l'industrie métallurgique, ou des dérivés organiques provenant directement de la synthèse industrielle, qui leur confère une toxicité importante. Les composés organiques de l'étain peuvent rester dans l'environnement pendant de longues périodes. Ils sont résistants et peu biodégradables. Les microorganismes ont beaucoup de mal à décomposer les organoétains qui se sont accumulés dans les sols.

La finalité de cette étude est d'apporter des éléments de réponses pour caractériser de manière simple la toxicité des mélanges complexes d'organoétains et l'exposition de la population générale.

Pour cela, l'étude sera menée en trois temps. Dans une première partie les organoétains seront présentés : leur structure chimique, leurs usages, leurs pharmacocinétique et pharmacodynamique et leur toxicité seront décrits. Dans une deuxième partie les informations contenues dans le document de l'EFSA seront analysées pour comprendre la démarche d'évaluation des risques sanitaires et les hypothèses sous-tendues. Cette autorité sanitaire s'intéresse uniquement aux composés organostanniques que l'on trouve dans les produits de la mer frais ou en conserve. La troisième partie consistera à vérifier si la méthode des facteurs d'équivalence de toxicité, méthode d'évaluation de la toxicité de mélanges de congénères, est applicable aux organoétains. Enfin l'éventuelle plus-value entre l'utilisation de la méthode des facteurs d'équivalence de toxicité et l'utilisation de la méthode explicitée dans le rapport de l'EFSA sera analysée.

1 NATURE ET TOXICITE DES ORGANOETAINS

1.1 Structures chimiques et propriétés

Les organoétains sont des composés qui ont au moins une liaison étain – carbone. L'étain est dans un état tétravalent. Les quatre séries d'organoétains possibles sont les suivantes : $R_4\text{Sn}$, $R_3\text{SnX}$, $R_2\text{SnX}_2$, et RSnX_3 où R représente un groupement butyl, octyl ou phényl et X est généralement un chlorure, acétate, carbonate, fluorite, oxyde, hydroxyde, carboxylate, sulfite ou thiolate (CEC, 1978). Des exemples de structures chimiques sont donnés en Figure 1 et en ANNEXE 1. Les possibilités concernant la composition moléculaire et la structure du groupement R sont virtuellement illimitées (Laughlin et al, 1985a). Au moins 260 composés organostanniques sont connus aujourd'hui dont 36 sont considérés comme toxiques (Watanabe, 1980).

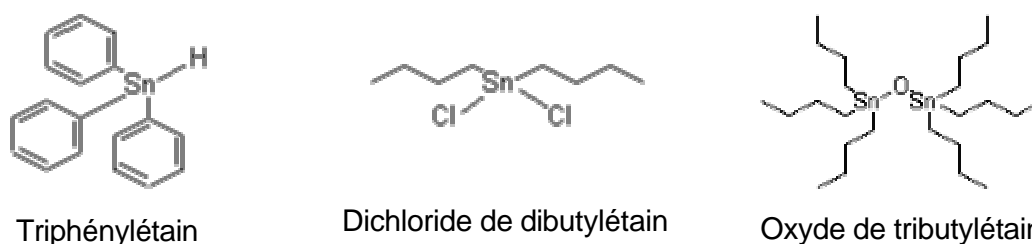


Figure 1 : Exemples de structures d'organoétains

La plupart des composés organostanniques commercialisés sont peu mobiles dans l'environnement car ils ont une faible solubilité dans l'eau, une tension de vapeur faible et une grande affinité pour les sols et les sédiments organiques (Blunden et Chapman, 1986).

Excepté les méthylétains, tous les organoétains sont d'origine anthropique (Laughlin et al, 1985b). Les dérivés de l'étain inorganique et les méthylétains sont obtenus par méthylation¹ par voie abiotique et/ou biotique. Les produits de la méthylation sont plus toxiques et bioaccumulables que l'élément lui-même et peuvent être à l'origine d'effets indésirables (Alzieu, 1989). Les cinétiques réactionnelles de la formation successive de monométhylétain, diméthylétain et triméthylétain sont peu connues, ce qui ne permet pas

¹ Substitution, dans une molécule, d'un radical méthyle à un atome d'hydrogène.

d'établir l'importance quantitative, d'une part des voies prépondérantes de transformation de l'étain dans le milieu aquatique, d'autre part du transfert potentiel vers l'atmosphère sous forme de dérivés volatiles (Alzieu, 1989).

La liaison carbone – étain est un point de moindre résistance des molécules d'organoétains ce qui facilite des désalkylations² successives attribuables à des ruptures de cette liaison obtenue par voie chimique, thermique, photochimique ou biologique. La dégradation par photolyse UV des tri-, di- et monoalkylétains en milieu aqueux a été expérimentalement démontrée ; dans tous les cas elle aboutit à la formation de précipités d'oxyde d'étain (SnO₂). Toutefois, la désalkylation des tributylétains et triméthylétains est plus rapide que celle des dérivés disubstitués et les mécanismes réactionnels sont encore mal connus. Les facteurs abiotiques³ majeurs qui limitent la persistance des organoétains dans l'environnement sont des températures élevées, une intensité lumineuse importante et des conditions aérobies.

Le caractère bioaccumulatif des organoétains dépend de leur comportement en phases lipide et aqueuse. En général, les composés hautement solubles dans l'octanol et peu solubles dans l'eau ont des valeurs élevées de K_{ow} (coefficient de partition octanol – eau). Les valeurs de K_{ow} des organoétains augmentent avec le nombre et le poids moléculaire des groupements organiques liés à l'atome d'étain, avec un potentiel bioaccumulatif significatif pour les organoétains liés à un groupement butyl et tributyl (Thompson et al, 1985).

En résumé, les organoétains sont des contaminants lipophiles moyennement solubles dans l'eau et facilement absorbés dans la matière particulaire dans les milieux aquatiques. En outre, ils s'accumulent dans les sédiments où ils sont relativement persistants et peuvent être absorbés par des organismes benthiques comme les palourdes. Les organoétains ont tendance à s'accumuler dans les poissons et d'autres organismes aquatiques.

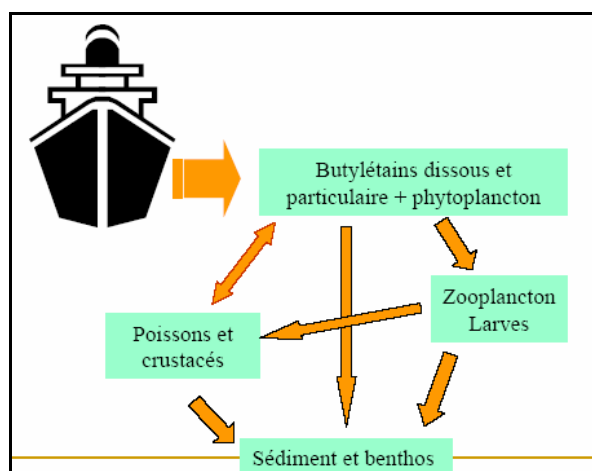
² Opération chimique visant essentiellement à substituer un ou plusieurs atomes d'hydrogène à un nombre égal de radicaux alkyles existant dans une molécule

³ Facteur abiotique : facteur biologique de nature physique ou chimique, comme la lumière, l'acidité d'un sol, etc. ...

1.2 Sources et usages des composés organométalliques issus de l'étain

L'étain, utilisé depuis l'âge du bronze, est un métal gris argenté, mou, malléable et ductile. L'étain en tant qu'atome seul ou molécule n'est pas très toxique, ce qui explique qu'il soit utilisé dans la fabrication des parois de boîtes de conserve. Cependant, le potentiel dangereux de l'étain est mis en évidence si le métal se lie délibérément ou accidentellement à un ligand organique. Cette liaison entraîne des comportements chimiques différents du métal d'origine dans l'environnement et à l'intérieur des organismes. L'étain est effectivement modifié industriellement pour être utilisé comme stabilisateurs de PVC et également pour augmenter sa toxicité pour être employé en tant que pesticides. En effet les organoétains servent de biocides pour préserver les grumes contre les activités d'organismes aquatiques et de composés de peintures antisalissures qui sont appliquées à l'extérieur des coques des navires, sur les parcs à poissons et sur d'autres surfaces exposées aux eaux marines pour prévenir l'incrustation des organismes marins (Walker *et al.*, 2001).

Par exemple, le tributylétain (TBT), largement utilisé dans les peintures antisalissures, a été commercialisé dans les années 1960 pour remplacer les renforçateurs à base d'organomercures, d'arsenic, de plomb et d'oxyde de cuivre. Il devint évident, à la fin des années 1970, que non seulement le TBT subissait une lixiviation à partir des surfaces peintes, mais qu'il avait des effets néfastes sur des formes de vie marine autres que celles visées (Thompson *et al.*, 1985). Sa dissémination dans le milieu aquatique marin est représentée sur la Figure 2.



Source : L. Viglino, M.-H. Michaud et E. Pelletier, Chaire de recherche en écotoxicologie, ISMER, Rimouski

Figure 2 : Modélisation de la distribution des butylétains

Actuellement les peintures modernes sont prévues pour libérer dans l'eau en se dégradant 1000 milliardièmes de grammes de TBT par cm² de coque de navire et par jour, par conséquent, 1 cm² de coque de navire peut potentiellement contaminer 1 m³ d'eau par jour⁴.

Durant les années 1980, des concentrations dangereuses de TBT ont été détectées dans de nombreux estuaires et secteurs côtiers de par le monde. Dans certains cas, elles atteignaient des milliers de nanogrammes par litre dans l'eau (Bryan et Gibbs, 1991). Des effets délétères sont observés chez de nombreuses espèces d'organismes marins. Deux de ces effets, l'effet « imposex » (imposition et développement de structures reproductrices mâles) et l'épaississement de la coquille, sont des indicateurs de la contamination de la faune et de la flore marines (Bryan et Gibbs, 1991; Evans et Leksono, 1995). Actuellement la production annuelle mondiale d'organoétains est estimée à 50 000 tonnes dont 15 à 20% concernent la production de tri organoétains (Bennett, 1996).

En France, des restrictions concernant l'utilisation du TBT ont été initialement imposées en 1982 et ensuite étendues à une interdiction complète de l'utilisation des organoétains dans les peintures antisalissures. En Angleterre, cette interdiction a été mise en place en 1987 et un seuil de 2 ng TBT/l a été établi pour la qualité environnementale; on considérait que les navires dont la longueur dépassait 25 m étaient plus souvent au large que dans les ports et ils n'étaient donc pas soumis à cette réglementation (Walker *et al.*, 2001). L'interdiction de toutes les peintures contenant des organoétains a finalement été généralisée à tous les états membres de l'Union Européenne grâce à la directive 1999/51/CEE. Aujourd'hui le règlement n°782/2003 du Parlement Européen et du Conseil du 14 avril 2003 vise à interdire les composés organostanniques sur tous les navires entrant dans un port communautaire pour le 1^{ier} janvier 2008.

1.3 Modes d'actions et effets sur l'organisme

Cette partie s'intéresse essentiellement aux organoétains que l'on retrouve dans les produits de la mer, c'est-à-dire ceux qui ont fait l'objet du travail de l'EFSA. Cependant,

⁴ Site Internet : <http://www.cub-brest.fr/contrat-baie/index.html>

les informations et les données mentionnées dans cette partie ne sont pas renseignées pour tous les congénères.

1.3.1 Toxicocinétique

Les voies possibles de contamination de l'homme par les organoétains sont :

- l'ingestion d'aliments pollués
- la voie aérienne
- la voie cutanée

Seule l'absorption par ingestion est relativement bien connue car l'administration de doses lors d'études chez les animaux se fait par l'intermédiaire de la nourriture. Chez l'homme, il existe peu de données épidémiologiques concernant les trois modes d'exposition.

Il semble que chez les animaux de laboratoire mais aussi chez les hommes, les organoétains sont absorbés par voie gastro-intestinale et que les triorganoétains sont biodégradés en composés di- et monoorganoétains, les composés organostanniques pouvant s'hydrolyser dans la nourriture et dans les organismes. Ces composés possèdent à la fois des propriétés lipophiles et ioniques : alors que les premières propriétés favorisent une accumulation dans les lipides, les dernières les autorisent à se lier à des protéines et des glutathions (Alzieu, 1989). Les systèmes endocrinien⁵ et immunitaire (notamment le thymus) est la cible des organoétains.

Par voie orale, la plupart des organoétains se distribue dans les reins, le foie et le système lymphatique. Une étude menée sur l'oxyde de tributylétain montre qu'après biotransformation (désalkylation), environ 5% d'une dose administrée par voie orale à des volontaires sains est éliminée par voie urinaire sous forme de dibutylétain. Les taux urinaires de dibutylétain diminuent rapidement dans les jours suivant l'administration (INERIS, 2005).

Enfin, une étude réalisée par Greenpeace aux Pays-Bas (Meijer *et al*, 2004) sur 91 volontaires en bonne santé (48 hommes et 43 femmes, âgés de 19 à 78 ans) a mis en

évidence la présence d'organoétains dans le sang humain. Les résultats présentés dans le Tableau 1 indiquent que les organoétains ont été faiblement détectés. Cependant les auteurs précisent que ces faibles niveaux pourraient être dus à l'utilisation réduite des organoétains dans le pays ainsi qu'à une consommation limitée de poisson.

Paramètre	MBT Ng/g de sang	DBT ng/g de sang	TBT ng/g de sang	MOT ng/g de sang	DOT ng/g de sang
Limite de détection de la méthode (LDM)	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Minimum	0,1		0,1	0,1	0,2
Maximum	0,1		0,1	0,5	2,4
Médiane	0,1		0,1	0,1	0,7
25 ^{ème} percentile				0,1	0,4
75 ^{ème} percentile				0,2	1,6
Nombre d'échantillons au dessus de la LDM	3	0	3	12	13

Paramètre	MPT Ng/g de sang	DPT ng/g de sang	TPT ng/g de sang
Limite de détection de la méthode (LDM)	<0,2	<0,2	<0,4
Minimum			
Maximum			
Médiane			
25 ^{ème} percentile			
75 ^{ème} percentile			
Nombre d'échantillons au dessus de la LDM	0	0	0

Source : Etude Greenpeace Pays-Bas, Novembre 2004

Tableau 1 : Concentrations d'organoétains détectés dans le sang humain

Nous pouvons constater, même si certains résultats sont non significatifs, que les composés les plus retrouvés et en forte concentration sont le MOT et le DOT qui sont principalement utilisés dans la fabrication de stabilisant de PVC plutôt que dans les peintures antialissures. Cette constatation nous conduit à dire que la contamination des aliments par les organoétains via le contact de PVC reste une voie non négligeable, bien que très peu étudiée.

⁵ Les différents organes du système endocrinien sont l'hypophyse, la thyroïde, les glandes surrénales et le pancréas, les ovaires et les testicules.

1.3.2 Toxicodynamique

Les mécanismes d'action des organoétains sont encore mal connus, notamment pour les congénères très peu étudiés comme le MOT et le DOT.

Cependant l'EFSA (2004) rapporte que dans les systèmes cellulaires, des concentrations élevées en organoétains induisent des nécroses via l'inhibition des fonctions importantes des mitochondries, comme la synthèse de l'ATP (adénosine triphosphate) suivie de la diminution du gradient ionique de la membrane plasmique. Cette chute du gradient ionique entraîne des gonflements irréversibles des cytoplasmes et de leurs organelles. La désintégration des cellules engendre des dysfonctionnements du cytosquelette, la mort nécrotique des cellules et des inflammations.

Dans les cellules, les composés organostanniques interagissent directement avec les protéines, endommagent les mitochondries, l'homéostasie du calcium et influencent les molécules réceptrices, comme les récepteurs de mort cellulaire, et les paramètres importants de l'apoptose⁶. *In vitro* les protubérances membranaires, la condensation de chromatine et la fragmentation des cellules peuvent être directement observées alors que *in vivo* l'effet le plus observé est l'internalisation de corps apoptosés par les cellules environnantes.

Les organoétains sont distribués dans tout le corps avec quelques préférences pour le foie et les reins. L'apparente sensibilité du thymus et d'autres organes et cellules du système immunitaire peut être dépendante de la sensibilité probable des structures à l'extérieur des cellules, par exemple des récepteurs de mort cellulaire. L'activation extrinsèque mais aussi intrinsèque du mécanisme apoptotique dans les cellules immunocompétentes font de ces cellules les cibles premières de l'activité des organoétains dont le résultat est l'immunosuppression (EFSA, 2004).

⁶ L'apoptose est un processus actif de mort cellulaire caractérisée par une résorption cytoplasmique, des protubérances membranaires, une condensation de la chromatine et une fragmentation de l'ADN nucléaire.

1.3.3 Effets toxiques

Les organoétains ne sont pas hautement toxiques pour toutes les espèces et la toxicité vis-à-vis d'une espèce dépend du groupement organique lié à l'atome d'étain (Tableau 2).

Composés d'organoétains	Hautement toxique pour
Triméthylétains	Insectes, oiseaux et mammifères
Triéthylétains	Mammifères
Tripoyplétains	Bactéries Gram négatif
Tributylétains	Poissons, mollusques, champignons et bactéries Gram positif
Triphénylétains	Poissons, champignons et mollusques
Tricyclohexylétains	Acariens

Source : Eisler, 1989

Tableau 2 : Espèces les plus concernés par la toxicité de différents triorganoétains

A) Chez les animaux

L'administration des doses aux animaux lors d'études de toxicité se fait par voie orale.

La toxicité aigue est très variable selon les congénères, entre les espèces et au sein d'une même espèce comme le montrent les données de Dose Létale à 50% (DL50) regroupées en ANNEXE 2.

En toxicité chronique, la synthèse des études regroupées dans le document de l'EFSA (2004) est la suivante :

- Effets immunitaires : effets sur le foie, les reins et la rate ; atrophie du thymus et de la rate ; hypersensibilité ; réduction des globules blancs et de l'immunoglobuline
- Tératogénicité, embryotoxicité, retard de croissance, réduction de la fécondité
- Neurotoxicité : probable perturbation de la production d'énergie chimique notamment au niveau des neurones par le tributylétain

Les organoétains n'induisent pas d'effet génotoxique. Quant à la cancérotoxicité, les informations sont variables selon les autorités. Par exemple, le triphénylétain est cancérigène catégorie 3 selon l'évaluation de l'ECCO, de catégorie 2 pour l'US EAP (probablement cancérigène pour l'homme).

Ces informations sont reprises plus largement dans le chapitre 3.2.3 et en ANNEXE 3 : Effets toxiques des organoétains

B) Chez l'homme

D'après les informations fournies en annexe 6 du document de l'EFSA (2004), les observations de contamination humaine ont montré que :

- concernant la neurotoxicité et l'exposition par inhalation, aucune conclusion ne peut être donnée car les effets observés sont non spécifiques
- les organoétains provoquent des irritations cutanées sévères mais ne sont pas des allergènes
- les informations concernant l'ingestion d'organoétains sont insuffisantes pour obtenir une relation dose-réponse

1.4 Conclusion

Le potentiel dangereux est avéré chez l'animal avec une multitude d'effets toxiques possibles. Chez l'homme, cette conclusion est moins évidente à formuler car la mise en évidence d'effets spécifiques est difficile.

Une étude canadienne (Cooke *et al.*, 2003) réalisée entre 1999 et 2002 a tenté de mettre en évidence la présence des organoétains dans des produits commercialisés (aliments frais, congelés et en boîte) afin d'établir si les concentrations retrouvées pouvaient conduire au dépassement de la dose journalière admissible établie à 0.25 µg/kg pc/j (EFSA, 2004) lors de leur consommation. Les concentrations en organoétains observées étaient faibles sauf pour le TBT pour lequel elles variaient de 1,8 à 207,5 ng/g. La consommation de 100g de produits présentant de fortes concentrations en TBT par une personne de 75kg est alors suffisante pour dépasser la dose journalière admissible. Les résultats de cette étude indiquent également que parmi les produits en boîte testés, ceux provenant de Corée et de Thaïlande contenaient les concentrations les plus fortes, et des organoétains ont également été trouvés dans des boîtes provenant du Canada, des Etats-Unis, des Pays-Bas et de la Chine. Cette étude met en évidence la présence d'un risque lié à la consommation de produits contaminés et la difficulté de mettre en place des réglementations et de gérer ces risques.

Ainsi une évaluation des risques liés à l'exposition chronique à un mélange d'organoétains est intéressante à réaliser du point de vue de la santé publique car :

- on les retrouve dans les poissons et les coquillages, qui peuvent être consommés quotidiennement

- le risque de consommer des produits contaminés est avéré et augmente suivant la provenance de ces produits (proximité des ports et zones maritimes) et la quantité consommée
- dans l'environnement et dans les organismes aquatiques, il semble que les composés organostanniques, présentant divers groupements organiques et substitutions non organiques, se trouvent en mélange du fait de leurs propriétés chimiques et des transformations biotiques ou abiotiques qu'ils peuvent subir.

Pour la suite de l'étude, nous nous intéresserons exclusivement aux composés que l'on peut détecter par des méthodes analytiques dans le poisson et les produits de la mer, c'est-à-dire les butylétains, les phénylétains, et aux composés qui peuvent migrer des matériaux en contact avec la nourriture vers celle-ci, c'est-à-dire les méthylétains, les octylétains et les dodécylétains.

2 LE RISQUE ASSOCIE AUX ORGANOETAINS : PRESENTATION ET DISCUSSION DU DOCUMENT REDIGE PAR L'AUTORITE EUROPEENNE DE SECURITE DES ALIMENTS (EFSA)

2.1 Description du document établi par l'EFSA

2.1.1 Présentation de l'EFSA

Après plusieurs séries d'épidémies alimentaires qui ont réduit la confiance des consommateurs dans les années 1990, l'Union Européenne a décidé de créer un nouveau comité scientifique chargé de fournir un avis objectif et indépendant sur des questions de sécurité alimentaire. Son objectif principal est de « contribuer à un niveau élevé de protection sanitaire du consommateur dans le secteur de la sécurité alimentaire, par lequel la confiance du consommateur peut être restaurée et maintenue »⁷. L'EFSA est légalement créée le 28 janvier 2002 par le Parlement Européen et est basée provisoirement à Bruxelles.

Des scientifiques de toute l'Europe sont répartis dans des groupes de travail, avec des compétences axées sur différents domaines, allant des additifs alimentaires à la protection de la santé des animaux. L'organisation communique au public de manière transparente sur tous les sujets qui lui sont confiés. L'EFSA est aujourd'hui la clé de voûte de l'Union Européenne pour l'évaluation des risques concernant la sécurité alimentaire.

2.1.2 Résumé du rapport de l'EFSA

L'EFSA publie en 2004 un rapport concernant les risques sanitaires pour les consommateurs, associés à l'exposition par les organoétains contenus dans des produits alimentaires. L'évaluation de ces risques est basée sur l'estimation de la consommation journalière en Europe de produits contaminés afin de calculer la dose journalière admissible (DJA).

⁷ Site Internet : <http://www.efsa.eu.int/>

Les experts ont synthétisé un très grand nombre d'études réalisées sur ces composés (plus de 330 références bibliographiques). Cette évaluation est focalisée sur les composés considérés comme les plus toxiques par les experts : le TBT, le DBT et le TPT ; qui sont principalement retrouvés dans les poissons et les produits de la mer et pour lesquels les données sur l'exposition sont considérées adéquates. Ils tiennent également compte de la toxicité du DOT, car bien que l'on ne le retrouve pas directement dans ces produits alimentaires, ce composé a un mode d'action immunotoxique similaire.

Le groupe d'experts considère que l'immunotoxicité est l'effet le plus critique en terme d'évaluation de risque. Ils fixent la dose journalière admissible à 0,25 µg/kg de poids corporel/jour, établie à partir des résultats d'une étude d'immunotoxicité chez le rat par ingestion d'oxyde de tributylétain (TBTO) (Wester *et al.*, 1988 ; 1990 ; Vos *et al.*, 1990) en appliquant un facteur d'incertitude de 100 qui prend en compte les variabilités inter et intra espèces. Comme l'Ensemble des TBT, des DBT, des TPT et des DOT engendrent des effets immunotoxiques par des modes d'actions similaires, et en l'absence d'études sur leurs effets combinés, les effets immunotoxiques sont considérés comme additifs et il est proposé une **DJA globale pour ces quatre congénères de 0,25 µg/kg de poids corporel/jour.**

Selon les experts, la toxicité des congénères est liée à la masse d'étain présente dans la molécule. Avec ce «raisonnement en masse d'étain », la DJA globale obtenue est de 0,1 µg Sn/kg de poids corporel en considérant la masse molaire de la molécule de TBTO. L'équivalent de cette valeur pour la molécule de TBTCI correspond à une DJA de 0,27 µg TBTCI/kg de poids corporel (ces calculs seront expliqués dans le paragraphe 2.2.1).

La principale source d'exposition aux organoétains pour la population est la consommation d'aliments et en particulier de poissons et de fruits de mer. La contamination de ces aliments par les organoétains est due à l'accumulation dans l'eau d'organoétains utilisés comme biocides, dans les peintures antifongiques ou comme pesticides pour l'agriculture. Les organoétains sont donc susceptibles de s'accumuler dans la chaîne alimentaire. Afin d'évaluer cette contamination, le groupe de travail se reporte au rapport de la Commission Européenne (EC) (SCOOP, 2003) sur l'évaluation de l'exposition alimentaire aux organoétains, basée sur des données issues de huit pays européens. Les résultats de ce rapport reposent sur une analyse statistique de données basées sur des assemblages complets de poissons et de fruits de la mer (ceux-ci étant généralement plus contaminés). Il montre que les concentrations médianes de TBT, DBT et TPT sont respectivement : 7, 2.5 et 4µg/kg de produit frais et la valeur moyenne

correspondante est environ 4 à 7 fois plus élevée. Ce rapport contient très peu de données sur le DOT qui est souvent en dessous des limites de détection.

Les calculs d'ingestion se basent sur le modèle norvégien de consommation de poissons et fruits de mer qui représente la plus grande consommation en Europe. Ces calculs montrent que la consommation d'aliments d'une population adulte est environ **3 fois moindre que la DJA globale proposée** en considérant la prise combinée de TBT, DBT et TPT (quand les calculs proviennent de valeurs moyennes). Cependant, le groupe de travail a noté que la consommation de produits provenant des lieux les plus contaminés comme ceux à proximité des ports et des routes maritimes fréquemment empruntées, **peut amener à des ingestions d'organoétains qui excèdent la DJA globale proposée.**

2.2 Discussion et critiques

2.2.1 Le raisonnement en « masse d'étain »

A) Principe

Le groupe de travail indique dans sa conclusion qu'il est possible de raisonner en « masse d'étain » pour évaluer la toxicité des organoétains. Les experts raisonnent ainsi en équivalents de toxicité de manière implicite. La toxicité de chaque congénère étant du même ordre de grandeur, les experts font l'hypothèse que cette toxicité est liée à l'atome d'étain.

On rappelle que la DJA pour les quatre congénères est de **0,25 µg/kg de poids corporel/jour.**

B) Détail des calculs

Pour raisonner en « masse d'étain » à partir du TBTO, le groupe d'experts a pris en compte la masse moléculaire du TBTO dont la structure chimique est représentée Figure 3.

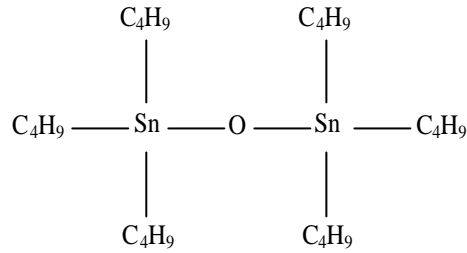


Figure 3 : Structure semi développée du TBTO

La molécule de TBTO contient deux atomes d'étain, il faut déterminer la part de l'atome d'étain dans la masse molaire de la molécule de TBTO.

On calcule premièrement la masse molaire du TBTO :

$$\begin{aligned}
 M_{TBTO} &= 24 \times M_C + 54 \times M_H + M_O + 2 \times M_{Sn} \\
 &= 24 \times 12 + 54 + 16 + 2 \times 118 \\
 &= 594 \text{ g / mol}
 \end{aligned}$$

On en déduit le pourcentage d'étain dans la molécule de TBTO :

$$\% Sn = \frac{2 \times 118}{594} = 39,7\% \approx 40\%$$

Pour connaître la DJA attribuable à cette quantité d'étain on fait le calcul suivant :

$$\begin{aligned}
 \text{DJA}_{\text{attribuable à la masse d'étain}} &= [\text{DJA}_{\text{globale}} : 0,25 \mu\text{g/kg de poids corporel/jour}] \times 40\% \\
 &= \underline{\underline{0,1 \mu\text{g Sn/kg de poids corporel/jour}}}
 \end{aligned}$$

A partir de cette DJA exprimée en masse d'étain, les experts déterminent pour un autre congénère TBTCI, dont la structure est représenté sur la Figure 4, la dose nécessaire à absorber pour dépasser la DJA.

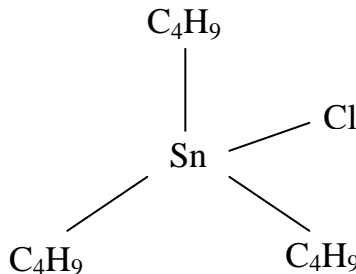


Figure 4 : Structure semi développée du TBTCI

Pour obtenir l'équivalent de 0,1 µg Sn/kg de poids corporel/jour avec la molécule de TBTCI, il faut faire le rapport suivant

$$\frac{\text{masse molaire de TBTCI}}{\text{masse molaire de Sn}} \times 0,1 \mu\text{g Sn/kg de poids corporel/jour}$$

On obtient alors :

$$\underline{\text{DJA}}_{\text{pour le TBTCI}} = \frac{324.5}{118} \times 0.1 = \underline{\underline{0,275 \mu\text{g TBTCI/kg de poids corporel/jour.}}}$$

Ainsi en se basant sur une DJA en masse d'étain de 0,1 µg Sn/kg de poids corporel/jour, on peut comparer les concentrations présentes dans un mélange d'organoétains à cette DJA. Ces calculs sont présentés dans le 4.2.1

C) Discussion

Il existe une contradiction entre l'hypothèse de la toxicité basée sur les masses et la réalité des valeurs observées. On remarque en effet pour des effets immunotoxiques observés, une NOAEL identique de 0,025 mg/kg de poids corporel/jour pour le TBTO (deux atomes d'étain) (Wester *et al.*, 1988 ; 1990 ; Vos *et al.*, 1990) et pour le TBTCI (un atome d'étain) (Cooke *et al.*, 2004 ; Tryphonas *et al.*, 2004). Ceci peut s'expliquer par la différence de durées des expériences et le manque de précision des études toxicologiques.

2.2.2 Abus de langage quant à l'utilisation des sigles pour les congénères

Dans la totalité du rapport, les experts utilisent des sigles pour parler de tous les congénères sans expliciter leur signification. Nous pouvons ainsi nous demander si, lorsque les experts parlent par exemple du «TBT » dans leur rapport, il s'agit de la molécule de tributylétain (TBTH) ou d'une molécule ayant trois substitutions avec un groupement butyl et une avec un groupement X pouvant varier ? (Figure 5).

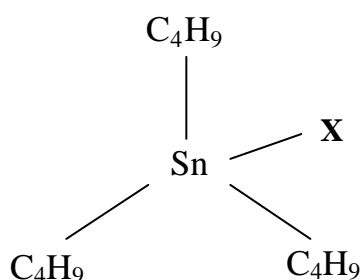


Figure 5 : Structure semi développée d'un organoétain trisubstitué

2.2.3 Conclusion

La toxicité des congénères semble résulter du type et du nombre de substitutions par des chaînes carbonées sur l'atome d'étain plutôt que de la masse d'étain.

Ainsi il paraît intéressant de comparer la méthode utilisée par l'EFSA avec la méthode des facteurs d'équivalence de toxicité et voir si un gain existe pour l'une des deux vis-à-vis de l'évaluation des risques liés aux organoétains.

3 LA METHODE DES FACTEURS D'EQUIVALENCE DE TOXICITE

3.1 Présentation générale de la méthode

3.1.1 Objectif de la méthode

La méthode des facteurs d'équivalence de toxicité, appelée méthode des TEF (Toxicity Equivalent Factors) dans le reste du rapport, a été développée initialement à la fin des années 1970 par la communauté scientifique internationale pour évaluer les risques liés aux mélanges complexes d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et d'hydrocarbures aromatiques polycycliques halogénés (HAPH). Les HAP et HAPH se trouvent en effet le plus souvent sous forme de mélanges complexes dont la composition varie selon le niveau trophique dans lequel ils se situent. L'objectif de la méthode est d'évaluer le potentiel toxique global d'un mélange complexe de congénères de composition donnée à partir de la toxicité relative des différents congénères pris séparément. La toxicité de chacun des congénères est évaluée individuellement et il est alors possible d'attribuer à chacun un coefficient proportionnel à son potentiel toxique. La toxicité globale du mélange est alors évaluée en tenant compte des concentrations des différents composés dans le milieu et de ce coefficient.

L'intérêt de la méthode des TEF pour l'évaluation des risques sanitaires des organoétains résiderait dans le fait qu'elle prenne en compte non seulement la masse d'étain du congénère étudié mais aussi la spécificité de chacun des composés notamment sur le plan structural. Ainsi un gain est apporté en terme de précision quant à l'évaluation du potentiel toxique du composé.

3.1.2 Principe

L'approche des TEF s'appuie sur la définition d'un composé de référence considéré comme étant le plus toxique pour un effet donné. Un TEF égal à 1 lui est attribué. Pour les autres congénères, un TEF compris entre 0 et 1 est déterminé en fonction de leur potentiel toxique relativement à celui du composé de référence, à partir de la formule suivante :

$$TEF_i = \frac{\textit{Toxicité du congénère } i}{\textit{Toxicité du congénère de référence}}$$

La toxicité globale du mélange peut alors être évaluée à partir des différents TEF déterminés pour chacun des congénères et en tenant compte de leur concentration dans le mélange, selon l'équation suivant :

$$TEQ = \sum_i TEF_i \times C_i$$

3.1.3 Hypothèses quant à l'utilisation de la méthode

La méthode des TEF se fonde sur un certain nombre d'hypothèses implicites.

- *Les effets des différents congénères sont additifs.*
- *Le potentiel toxique d'un congénère est le même d'une espèce à une autre, d'un effet à un autre et d'une voie d'exposition à une autre.*

Van den Berg *et al.* (1998) a proposé une liste de critères permettant d'inclure ou non une molécule HAP ou HAPH dans l'approche des TEF. Les critères retenus sont les suivants :

- ***Les composés doivent avoir une structure chimique suffisamment proche.***
- ***Les composés doivent avoir un mécanisme d'action commun.***
- ***Les composés doivent avoir des effets biochimiques et toxiques similaires.***
- ***Les composés doivent être bio persistants et doivent pouvoir s'accumuler dans la chaîne alimentaire.***

Si une molécule donnée ne vérifie pas ces différents critères, elle ne peut être incluse dans l'approche TEF.

3.2 Possibilité d'appliquer la méthode des TEF aux organoétains

La méthode des TEF appliquée aux HAP et HAPH permet d'évaluer avec plus de précision l'exposition de la population générale à ces composés. Il serait intéressant d'appliquer cette même approche aux organoétains afin d'estimer la toxicité d'un mélange de congénères. L'idée est de reprendre la liste des critères d'inclusion proposée par Van den Berg *et al.* (1998) et de vérifier si les différents congénères d'organoétains les suivent.

3.2.1 Structure chimiquement proche

Une des hypothèses sous-tendues par la méthode des TEF stipule que les congénères inclus dans l'approche doivent avoir des structures chimiquement proches. Les organoétains ont tous des structures chimiques similaires. Ils sont composés d'un atome d'étain central de valence quatre qui forme des liaisons avec des atomes d'hydrogène, des halogénés ou des chaînes organiques. Dans le cas des organoétains, au moins une des substitutions doit être une chaîne organique. Les composés organostanniques sont de type : $R\text{SnX}_3$, $R_2\text{SnX}_2$, $R_3\text{SnX}$, $R_4\text{Sn}$, où R est une substitution organique, Sn l'atome d'étain et X un atome d'hydrogène ou un halogéné.

On considère dans l'étude trois grands groupes d'organoétains : les butylétains, les phénylétains et les octylétains. Dans ce cas, les substitutions organiques sont des groupements phényl, butyl ou octyl. Ces groupements sont représentés ci-dessous :

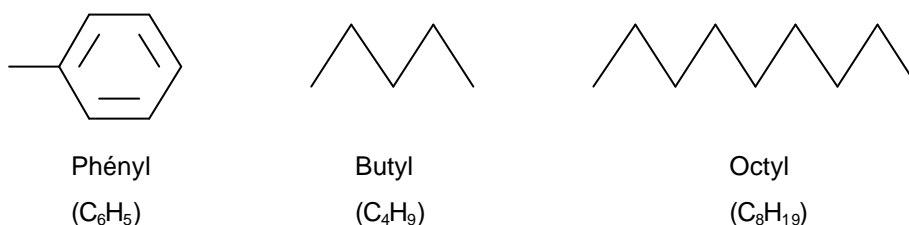


Figure 6 : Substitutions organiques possibles

Le TBTO (Figure 3) a une structure chimique particulière. L'atome d'oxygène a en effet une valence de deux et va donc se lier à deux atomes d'étain. Chacun de ces atomes d'étain se lie à trois groupements organiques. Il y a donc deux atomes d'étain mais la structure chimique globale reste similaire aux autres congénères.

Il apparaît donc clairement que les différents congénères d'organoétains de type butyl, phényl et octyl ont des structures chimiques proches et vérifient donc le premier critère d'inclusion.

3.2.2 Mode d'action commun

A) Critères

D'après Borgert *et al.* (2004), il existe trois types de critères pour évaluer le mécanisme ou mode d'action des mélanges de produits chimiques :

- le critère du seuil dose-réponse qui sera discuté dans le paragraphe 3.2.3
- le critère du mécanisme commun
- le critère de l'organe cible

Pour définir un mécanisme d'action commun, les données expérimentales doivent être suffisantes pour émettre des conclusions sur les aspects suivants pour chaque congénère :

- le métabolisme et la distribution du composé dans l'organisme et l'influence qui s'en suit de la dose sur les molécules cibles
- les molécules cibles
- les voies biochimiques affectées par le composé sur la molécule cible et les perturbations résultantes
- les conséquences au niveau de la cellule et de l'organe affectés par ces voies biochimiques
- les tissus et organes cibles
- les réponses physiologiques aux effets biochimiques et cellulaires
- les réponses de l'organe cible aux effets biochimiques, cellulaires et physiologiques
- l'effet global sur l'organisme
- les relations causales et temporelles entre les différentes étapes du mécanisme d'action
- les paramètres dose-réponse associés à chaque étape

B) Mécanisme d'action similaire

In vitro et *in vivo* les organostanniques ont des effets critiques variés qui visent les cellules du système immunitaire et du sang, le système nerveux, les membranes cellulaires, l'homéostasie du calcium et les fonctions mitochondriales. *In vivo* la plupart des études montrent que les effets les plus importants concernent les fonctions immunitaires avec un même effet finalement mis en évidence : la perte de poids du thymus du fait de son atrophie. L'atrophie peut être déclenchée de manière extrinsèque via des récepteurs ou de manière intrinsèque dépendant des mitochondries.

Krug (2002a, b) a mis en évidence l'existence de récepteurs de mort cellulaire très variés à la surface des cellules immunitaires ce qui explique leur extrême sensibilité aux composés organostanniques. Les congénères ont un effet direct sur les protéines qui induisent le mécanisme extrinsèque de l'apoptose.

Concernant le mécanisme intrinsèque de l'apoptose, le TBT et le DBT semblent interférer sur l'homéostasie du calcium et les paramètres mitochondriales dans les thymocytes des

rats ce qui entraîne la génération d'espèces réactives de l'oxygène⁸, la libération de cytochrome c dans le cytoplasme, l'activation des caspases⁹ et la fragmentation de l'ADN (Gennari *et al.*, 2000). Cependant, d'autres études montrent que l'induction de l'apoptose se produit sans une participation directe ou immédiate des mitochondries. L'ensemble de ces effets semble être dépendant de la synthèse de protéines (Gennari *et al.*, 2002b).

Ces mécanismes *in vitro* peuvent être démontrés pour la plupart des organoétains, mais toutes les études sur les divers congénères ne sont pas menées de la même manière. Notamment pour le DOT, les études *in vitro* sont rares et les informations disponibles concernent des effets critiques différents de l'homéostasie du calcium, de l'apoptose ou de l'altération des mitochondries (Smith *et al.*, 1995 ; Tam et Hinsdill, 1984, 1990 ; Webber *et al.*, 1985). Les investigations menées *in vivo* sur le DOT suggèrent pourtant des effets similaires ou comparables avec les autres congénères (Miller *et al.*, 1986).

C) Conclusion

On peut ainsi faire l'hypothèse que les organoétains ont un mécanisme d'action similaire car ils engendrent un effet toxique identique (atrophie du thymus) même si l'effet biochimique qui en est la cause est différent. Il est plus intéressant d'avoir un effet toxique semblable qu'un effet biochimique semblable, car dans les organismes un même effet biochimique n'entraîne pas forcément le même effet toxique.

3.2.3 Effets similaires

L'ensemble des effets obtenus pour chacun des congénères est répertorié dans le tableau 3.

⁸ Peroxyde d'hydrogène H₂O₂, radicaux libres superoxydes O₂ et hydroxyles-OH. Ces espèces sont responsables, d'une manière directe ou indirecte, de nombreux dommages oxydatifs au niveau moléculaire (acides nucléiques, protéines, lipides...), pouvant affecter considérablement les mécanismes cellulaires.

⁹ Protéines cytoplasmiques

	Groupe TBT	Groupe DBT	Groupe TPT	Groupe DOT
Toxicité aiguë	Démontrée. Inhibition de l'hépatotoxicité. <i>Ueno et al (1997, 2003)</i>	Démontrée. Inhibition de l'hépatotoxicité. <i>Ueno et al (1997, 2003)</i>	Démontrée. <i>EC (1997)</i>	Démontrée. <i>EC (1997)</i>
Carcinogénicité	TBTO : diminution poids corporel, augmentation du nombre de tumeurs bénignes (Rat) <i>Wester et al (1988, 1990)</i> TBTO : pas d'augmentation significative du nombre de tumeurs, augmentation de la mortalité (Souris) <i>Daily (1992)</i>	DBTAc : Pas d'augmentation significative du nombre de tumeurs (Rat + Souris) <i>Til et al (1970)</i> <i>OMS (1992)</i>	TPTOH : Pas d'augmentation significative du nombre de tumeurs (Rat) <i>Til et al (1970)</i> <i>OMS (1992)</i>	MOTS/DOTC : légère augmentation lymphomes malignes pour doses élevées (Rat et Souris) <i>EC (1999)</i>
Génotoxicité	Pas d'effet génotoxique <i>Davis et al. (1987)</i>	Pas d'effet génotoxique <i>NCI, IRS N. 183, 1979</i>	Pas d'effet génotoxique <i>EC 1997, US EPA 1990, OMS-IPCS 1992, 1999 a</i>	Pas d'effet génotoxique <i>EC (1999)</i>
Immunotoxicité	TBTO : Réduction poids thymus et rate, réduction paramètres de réponse humorale et cellulaire (Rats, Souris) <i>Kranjc et al (1984), Vos et al. (1990)</i>	Réduction poids thymus et rate, Réduction paramètres de réponse humorale et cellulaire (Rat) <i>Snoeij et al (1988, 1977 a)</i>	TPTOH : Réduction poids thymus, rate et foie, réduction IgM et réponse humorale et cellulaire (Rat, Souris) <i>Vos et al (1983, 1984 b), Snoeij et al (1985), Mc Cormick et Thomas (1990)</i>	Réduction poids thymus et réponse humorale et cellulaire <i>Seinen et al (1976, 1977 a, 1979)</i>
Système reproductif	Effets sur système reproductif et développement. Bébés : petite portée, plus faible augmentation du poids et plus faible survie, diminution du poids de la rate et du thymus (Rat) <i>Ogata et al 2001, Omura et al 2001</i>	Toxicité sur système reproductif, tératogénotoxicité, embryotoxicité <i>Farr et al (2001)</i>	Effets sur système reproductif et développement. Bébés : petite portée, plus faible augmentation du poids et plus faible survie, diminution du poids de la rate et du thymus (Rat) <i>Young (1986), EC(1997), OMS – IPCS (1999a)</i>	DOTTG/MOTTG : embryotoxicité et effets sur système reproductif <i>Schering et al (1991, 1992, non publiés)</i>
Neurotoxicité	Aucune étude ne montre un effet neurotoxique	Aucune étude ne montre un effet neurotoxique	Neurotoxicité avérée <i>Wu et al. (1990), Lin et al. (1998)</i>	Aucune étude ne montre un effet neurotoxique

Source : EFSA, 2004

Tableau 3 : Effets de chaque famille de congénères

A partir de ce tableau, un certain nombre d'éléments peuvent être extrapolés.

- **Toxicité aiguë** : L'ensemble des quatre congénères étudiés présente des effets en toxicité aiguë.
- **Carcinogénicité** : Pour chacun des composés, il n'y a pas d'augmentation significative du nombre de tumeurs. Les connaissances sur les effets cancérigènes sont insuffisantes pour pouvoir conclure sur des effets similaires ou non des différents congénères. En effet, l'US EPA par exemple a classé le TPTOH dans la catégorie B2 (cancérigène probable pour l'homme). Face à cette insuffisance de données en la matière, il est difficile de conclure sur la similitude des effets.
- **Génotoxicité** : Plusieurs études montrent que les quatre congénères ne présentent pas d'effets génotoxiques.
- **Immunotoxicité** : L'immunotoxicité semble être l'effet critique pour l'ensemble des congénères. Elle s'accompagne d'une réduction du poids du thymus et de la rate ainsi qu'une réduction des différents paramètres de réponse humorale et cellulaire. Chacun des congénères présente les mêmes effets et ce sont les mêmes organes cibles.
- **Système reproductif** : Des effets similaires peuvent être relevés. Chez la mère, on note des effets sur le système reproductif. Chez le fœtus et le nouveau né, il y a des effets sur le développement (courbe de croissance ralentie).
- **Neurotoxicité** : La neurotoxicité a été prouvée pour le TPT et d'autres congénères non inclus dans l'étude (TMT, TET). En revanche, les autres congénères seraient beaucoup moins toxiques voire non toxiques. Il manque cependant des données pour pouvoir conclure avec certitude.

Les quatre congénères étudiés présentent des effets similaires en ce qui concerne la toxicité aiguë, la génotoxicité, l'immunotoxicité et les effets sur le système reproductif. En revanche, les données sont insuffisantes pour pouvoir conclure sur leur potentiel toxique relatif en carcinogénicité et en neurotoxicité. Une approche TEF serait envisageable en excluant la carcinogénicité et la neurotoxicité.

3.2.4 Persistance et accumulation dans la chaîne alimentaire

A) Accumulation dans la chaîne alimentaire

a) *En milieu aquatique*

Les butyl- et phénylétains possèdent des propriétés d'accumulation et de bioconcentration par les organismes vivants notamment en milieu aquatique. La fixation de groupements organiques sur un élément métallique augmente en effet le caractère lipophile de la molécule. Lorsque le caractère lipophile est suffisamment important, la substance est alors généralement bioaccumulable.

Les butyl- et phénylétains se trouvent notamment dans les peintures des bateaux. Lors du processus de dégradation, ils se retrouvent dans l'eau et s'accumulent dans les sédiments. En milieu aquatique, les organoétains mentionnés ci-dessus peuvent être absorbés et concentrés par les bactéries, les phytoplanctons, les mollusques, les crustacés et les poissons. Les études menées sur la bioaccumulation des organoétains concernent en grande majorité les butylétains et seulement quelques études rapportent les propriétés de bioaccumulation des phénylétains (Alzieu, 1989).

- **Accumulation par les bactéries**

Blair *et al.* (1988) ont montré que des isolats bactériens pouvaient accumuler rapidement des quantités importantes de TBT, jusqu'à 300 ng de TBT par mg de biomasse sèche. L'hypothèse a été émise que certaines bactéries estuariennes pourraient constituer un système de stockage des TBT ce qui faciliterait leur intégration dans les chaînes alimentaires. Aucune étude n'a pu être trouvée sur l'accumulation des autres formes d'organoétains par les bactéries estuariennes.

- **Accumulation par le phytoplancton**

Des études menées par Ishii (1982) aux Etats-Unis (Mission Bay et San Diego Bay) ont mis en évidence des concentrations de TBT allant de 0.2 à 2.2 µg/g (masse humide) dans les algues. Tugrul (1982) a obtenu des résultats similaires en mesurant des masses de TBT de l'ordre de 16.8 à 37 µg/g (masse sèche) à Lamas Port en Turquie.

- **Accumulation dans les mollusques**

La fonction de nutrition des mollusques fait appel à une filtration de l'eau dans laquelle ils reposent. Aussi sont-ils capables d'accumuler de grosses quantités de polluants contenus dans l'eau filtrée. Diverses études ont été menées sur des huîtres, moules et coquilles Saint Jacques et des quantités significatives d'organoétains ont pu être retrouvées. Amodio Cocchieri (2000) a démontré la présence de DBT et TBT à la fois dans des

moules d'élevage et des moules sauvages. Les concentrations de DBT et TBT trouvées étaient de 4 µg/kg pour les moules d'élevage et sauvages pour le DBT et de 2 µg/kg (moules d'élevage) et 5 µg/kg de (moules sauvages) pour le TBT.

- **Accumulation dans les poissons**

De nombreuses études ont montré la présence d'organoétains dans les muscles des poissons. Harino *et al.* (2000) ont notamment trouvé des quantités de TBT et TPT respectivement de 0.011-0.182 mg/kg (masse humide) et 0.001-0.130 mg/kg (masse humide). Les poissons accumulent à la fois des butylétains et des phénylétains qui seront ensuite directement consommés par l'homme.

Une étude portant sur la présence d'organoétains dans d'un réseau alimentaire issu des eaux marines (moules, anguille, gardon, brème, brochet, perche, sandre, cormoran) a révélé des teneurs plus importantes en TPT qu'en TBT aux faibles niveaux trophiques (Staeb *et al.*, 1996). L'hypothèse a été émise que les triphénylétains sont en grande partie extraits des sédiments via les organismes benthiques. Aux niveaux trophiques plus élevés, la bioaccumulation de triphénylétains était plus importante qu'en tributylétains.

b) Par contact entre aliments et emballage

Certains organoétains sont utilisés comme stabilisateurs de PVC dans des matériaux destinés à l'emballage de denrées alimentaires. Lorsqu'il y a contact entre les aliments et les dits emballages, il peut y avoir migration des organoétains vers les aliments qui sont alors contaminés. Ceci concerne les MMT/DMT, l'acide butylthiostanoïque, le dibutylétain, les MOT/DOT et les MDT/DDT. Sadiki & Williams (1999) ont notamment mis en évidence des MMT, DMT, MBT et DBT dans de l'eau circulant dans des tuyaux en PVC contenant les organoétains concernés.

B) Persistance des organoétains dans l'environnement

Les organoétains ont une durée de vie limitée dans l'eau mais sont en revanche très persistants dans les sédiments.. Le Tableau 4 récapitule l'ensemble des données portant sur la persistance des organoétains dans l'environnement.

Composés	Demi-vie	Compartiment environnemental	Références
TBT	5 à 12 jours	Microsome, T°C ambiante, lumière du jour	Seligman <i>et al.</i> 1986 a
	9 à 15 jours	Microsome, T°C ambiante, à l'abri de la lumière	Seligman <i>et al.</i> 1986 a
	7 à 11 jours	Microsome, Conditions d'hiver	Seligman <i>et al.</i> 1986 a
	5 à 9 jours	Microsome, Conditions d'été	Seligman <i>et al.</i> 1986 a
	60 jours	Eaux de mer naturelle contaminée et dopée	Thain <i>et al.</i> 1987
	90 jours	Eaux de mer naturelle non contaminée et dopée	Thain <i>et al.</i> 1987
	25 jours	Algues, <i>Ankistrodesmus falcatus</i>	Maguire <i>et al.</i> 1984
	10 à 14 jours	Mollusques bivalves	Cardwell <i>et al.</i> 1986 Laughin <i>et al.</i> 1986a
	10 mois	Sédiments à 20°C	Maguire <i>et al.</i> 1985
TMT	80 jours	Sédiments	Guard <i>et al.</i> 1981
TPT	1 à 3 mois	Sols sableux et limoneux	US EPA 1987
	126 jours	Sols inondés et limoneux	US EPA 1987
	Quelques jours	Eaux de mer, juin	Soderquist and Crosby, 1980
	2-3 semaines	Eaux de mer, novembre	Soderquist and Crosby, 1980
	139 jours	Moules dans port très contaminé	Shiraishi and Soma, 1992
	127 jours	Moules dans rivière dix fois moins contaminée	Shiraishi and Soma, 1992
	30 jours	Palourdes	Takeuchi <i>et al.</i> 1989
	48 jours	Guppy	Tas <i>et al.</i> , 1990
	347 jours	Gastropodes	Mensink <i>et al.</i> , 1996

Tableau 4 : Persistance des organoétains dans l'environnement

Le DOT se trouve dans la chaîne alimentaire via le contact entre aliments et produits d'emballage. Aucune donnée sur sa stabilité dans de tels matériaux n'a pu être trouvée.

3.2.5 Conclusion

Suite à cette analyse, on peut constater que les congénères retenus dans l'étude (TBT, DBT, TPT, DOT) vérifient les critères d'intégration dans l'approche TEF. Il apparaît donc théoriquement possible de calculer le potentiel toxique d'un mélange de ces congénères en appliquant la méthode des TEF. Quelques incertitudes demeurent cependant en ce qui concerne la similitude des effets notamment la neurotoxicité et la similitude des mécanismes d'action.

3.3 Application de la méthode des TEF aux organoétains

3.3.1 Intérêt d'une approche TEF

On se propose dans un premier temps de vérifier si les différents congénères ont une toxicité différente afin de juger de la pertinence d'une approche TEF. Les organoétains se différencient les uns des autres par :

- leur nombre de chaînes organiques
- le type de chaîne organique
- le type de substitution au niveau des liaisons non organiques

La toxicité d'un congénère donné peut dépendre de l'ensemble de ces trois caractéristiques. Ainsi, la toxicité pourrait varier avec le nombre de substitutions organiques et selon le type de groupement. Les liaisons non organiques, type hydrogène ou halogénés pourraient aussi jouer un rôle dans le potentiel toxique. Ces différentes caractéristiques n'influencent peut-être pas de manière équivalente le potentiel toxique. Aussi serait-il intéressant de comparer des valeurs de toxicité des différents congénères pour voir s'il y a des différences notables dues à l'une ou l'autre de ces caractéristiques. Dans cette analyse, seuls trois effets sont pris en compte : la toxicité aigue, l'immunotoxicité et la toxicité relative au système reproductif. Le Tableau 5 récapitule les données issues d'études portant sur les organoétains.

		Toxicité aigue	Immunotoxicité (Réduction poids du thymus)	Système reproductif		
				Reproduction	Développement (Maternel)	Développement (Fœtus)
TPT	TPTOH		LOAEL = 0.25 mg/kg pc (Rat) 3 semaines <i>Vos et al. (1983, 1984b)</i> NOAEL = 0.75 mg/kg pc (Souris) 28 jours <i>McCormick and Thomas (1990)</i>	NOAEL = 0.4 mg/kg pc (Rat) 2 générations <i>Young (1986)</i>	NOAEL = 1 mg/kg pc (Rat) <i>Rodwell (1985)</i> NOAEL = 0.1 mg/kg pc (Lapin) <i>Rodwell (1987)</i>	NOEL=3.2 mg/kg pc (Rat) <i>Rodwell (1985)</i> NOEL=0.3 mg/kg pc (Lapin) <i>Rodwell (1987)</i>
	TPTCI		LOAEL = 0.75 mg/kg pc (Rat) 2 semaines <i>Snoeij et al. (1985)</i>		NOAEL = 3.1 mg/kg pc (Rat) <i>Ema et al. (1999)</i>	
	TPT (non précisé)	DL₅₀ = 140/298 mg/kg pc (Rat) DL₅₀ = 81/93 mg/kg pc (Souris)				

		Toxicité aiguë	Immunotoxicité (Réduction poids du thymus)	Système reproductif		
				Reproduction	Développement (Maternel)	Développement (Fœtus)
DBT	DBTO	DL₅₀ = 520 mg/kg pc (Rat) DL₅₀ = 24 mg/kg pc (Souris) <i>OMS-ICPS (1980)</i>				
	DBTCl ₂	DL₅₀ = 100 mg/kg pc (Rat) DL₅₀ = 25 mg/kg pc (Souris) <i>OMS-ICPS (1980)</i>	LOAEL = 2.5 mg/kg pc (Rat) 2 semaines <i>Snoeij et al. 1988</i>		NOAEL = 5 mg/kg pc (Rat) <i>Farr et al (2001)</i>	NOAEL = 5 mg/kg pc (Rat) <i>Farr et al (2001)</i>
DOT	DOTCl ₂	DL₅₀ = 5500/8500 mg/kg pc <i>OMS-ICPS (1980)</i>	LOAEL=2.5 mg/kg pc (Rat) 2 semaines <i>Seinen et al. (1977)</i>			
	DOTTG / MOTTG			NOAEL = 1.9 mg/kg pc (Rat) 2 générations <i>Mitterer 1997</i>	NOAEL = 30 mg/kg pc (Rat) <i>Faqi et al. (2001)</i>	NOAEL=45 mg/kg pc (Rat) <i>Faqi et al. (2001)</i>
	DOT (non précisé)	DL₅₀ > 1000 mg/kg pc <i>OMS-ICPS (1980)</i>				
TBT	TBTO	DL₅₀ = 94 à 234 mg/kg pc (Rat) DL₅₀ = 44 à 230 mg/kg pc (Souris) <i>OMS-ICPS (1990)</i>	NOAEL = 0.025 mg/kg pc (Rat) LOAEL=0.25 mg/kg pc 4-6 et 15-17 mois <i>Vos et al. (1990)</i> NOAEL=0.5 mg/kg pc LOAEL=5 mg/kg pc 28 jours <i>Verdier et al. (1991)</i>	NOAEL = 0.34 mg/kg pc (Rat) 2 générations <i>Schroeder (1990)</i>	NOAEL = 5 mg/kg pc (Rat) <i>Schroeder (1981)</i> <i>Crofton et al. (1989)</i> NOAEL=20 mg/kg pc (Souris) <i>Baroncelli et al. (1990)</i> NOAEL= 5.8 mg/kg pc (Souris) <i>Davis et al. (1987)</i>	NOAEL = 5 mg/kg pc (Rat) <i>Crofton et al. (1989)</i> NOAEL=11.7 mg/kg pc (Souris) <i>Davis et al.(1989)</i> NOAEL=20 mg/kg pc (Souris) <i>Baroncelli et al. (1990)</i>
	TBTCl		NOAEL = 0.025 mg/kg pc (Ratte) Pas de données sur la durée <i>Cooke et al. (2004)</i> <i>Tryphonas et al (2004)</i>	LOAEL = 0.25 mg/kg pc (Rat) <i>Ogata et al. (2001)</i> <i>Omura et al. (2001)</i>	NOAEL=4.1 mg/kg pc (Rat) <i>Harazono et al.(1998)</i>	

Tableau 5 : Toxicité des organoétains

A partir du Tableau 5 on peut avancer un certain nombre d'hypothèses quant à l'influence des différentes caractéristiques des congénères sur leur potentiel toxique.

- **Type de groupement organique** : La comparaison de la toxicité du DOTCl₂ et du DBTCl₂ met en évidence le rôle de la liaison organique sur la toxicité. Afin de pouvoir comparer les données, elles doivent être converties dans la même unité

(mg Sn/kg pc) et être issues d'études de durée équivalente. Le Tableau 6 récapitule les données relatives à la toxicité pour les deux composés considérés pour les études portant sur le rat et de durée comparables (deux semaines pour l'immunotoxicité, deux générations pour le système reproductif). Aucune valeur n'était disponible pour la reproduction.

	Toxicité aiguë DL ₅₀ (mg Sn/ kg pc)	Immunotoxicité LOAEL (mg Sn/ kg pc)	Développement (mère) NOAEL (mg Sn/ kg pc)	Développement (fœtus) NOAEL (mg Sn/ kg pc)
DBTCI ₂	39	0,97	1,9	1,9
DOTCI ₂	1562 à 2414	0,71	4,62	6,9

Tableau 6 : Influence de la liaison organique. Valeurs toxicologiques pour le DBTCI₂ et le DOTCI₂ exprimées en mg Sn/kg pc

Le DOTCI₂ est moins toxique que le DBTCI₂ pour la toxicité aiguë et la toxicité sur le système reproductif alors que la toxicité des deux composés est équivalente pour l'immunotoxicité. Le DOTCI₂ est globalement moins toxique que le DBTCI₂ et il apparaît donc que le type de substitution organique lié à l'atome d'étain influence la toxicité du congénère.

- **Nombre de substitutions organiques :** Les seules données disponibles pour analyser l'influence du nombre de substitutions organiques concernent le TBT et le DBT en toxicité aiguë et en toxicité sur le développement (Tableau 7).

		Toxicité aiguë DL ₅₀ (mg Sn/ kg pc)	Développement (mère) NOAEL (mg Sn/ kg pc)
TBT	TBTO	37 à 293 (Rat)	
	TBTCl	17 à 19 (Souris)	1,5
DBT	DBTO	246 (Rat)	
	DBTCI ₂	11,3 (Souris)	1,9

Tableau 7 : Influence du nombre de substitution organiques. Valeurs toxicologiques pour le TBT et DBT exprimées en mg Sn/kg pc

Il est difficile de conclure quant à l'influence du nombre de liaisons organiques sur la toxicité car selon l'effet et l'espèce, ce n'est pas toujours le même composé qui est le plus toxique.

- **Type de substitution non organique** : Pour évaluer l'influence du groupement non organique sur la toxicité, on peut par exemple comparer le TBTO et TBTCI ou le TPTOH et le TPTCI. Peu de données comparables sont disponibles pour ces deux composés (Tableau 8)

		Immunotoxicité NOAEL (mg Sn/kg pc)	Développement (mère) NOAEL (mg Sn/kg pc)
TBT	TBTO	0,01	2
	TBTCI	0,01	1,5
TPT	TPTOH	0,08	0,32
	TPTCI	0,23	0,95

Tableau 8 : Influence de la liaison non organique. Valeurs toxicologiques pour le TBT et le TPT exprimé en mg Sn/kg pc

La liaison non organique semble avoir une influence sur la toxicité du congénère mais dans une moindre mesure. Le potentiel toxique des congénères varie en effet relativement peu avec la liaison non organique.

On constate que la toxicité des congénères n'est pas identique et que d'autres paramètres tels que le type de substitutions organiques interviennent.

3.3.2 Mise en évidence de l'effet critique

Les données du Tableau 5 montrent que ce sont les effets immunotoxiques qui apparaissent aux plus faibles doses et ce, pour l'ensemble des congénères. L'immunotoxicité peut donc être considéré comme l'effet critique. Les études portant sur l'immunotoxicité sont récapitulées dans le Tableau 9.

Congénère	Espèce	Durée de l'étude	NOAEL (mg/kg pc)	LOAEL (mg/kg pc)	En se basant sur :	Référence
TPTOH	Rat	3 sem		0.25	Réduction du poids du thymus et de divers paramètres de réponse humorale et cellulaire	<i>Vos et al. 1983, 1984b</i>
	Souris	28 jours	1		Réduction de paramètres dépendant du thymus Diminution IgM	<i>McCormick and Thomas 1990</i>
TPTCI	Rat	2 sem		0.75	Réduction du poids du thymus et de la ratte	<i>Snoeij et al. 1985</i>
DOTCl ₂	Rat	2 sem		2.5	Réduction poids du thymus et divers paramètres réponse humorale et cellulaire	<i>Seinen et al. 1977a</i>

Congénère	Espèce	Durée de l'étude	NOAEL (mg/kg pc)	LOAEL (mg/kg pc)	En se basant sur :	Référence
TBTO	Rat	4-6 mois 15-17 mois	0.025	0.25	Effets sur thymus	<i>Vos et al. 1990</i>
	Rat	2 ans	0.025		Changements hématologiques et dans niveaux d'hémoglobine	<i>Wester et al. 1988, 1990</i>
	Rat	28 jours	0.5	5	Effets sur le thymus	<i>Verdier et al. 1991</i>
TBTCl	Ratte	Pas de données	0.025		Réponse immunitaire fonctionnelle	<i>Cooke et al., Tryphonas et al. 2004</i>
DBTCl ₂	Rat	2 sem		2.5	Réduction du poids du thymus et de divers paramètres de réponse humorale et cellulaire	<i>Snoeij et al. 1988</i>

Tableau 9 : Etudes portant sur l'immunotoxicité

3.3.3 Classement relatif des congénères

Le Tableau 95 montre que la toxicité peut varier considérablement d'un congénère à l'autre et d'un effet à l'autre. Afin d'affiner l'analyse et de déterminer un classement relatif des différents congénères en terme de toxicité, on se propose d'étudier plus en détail les valeurs. Pour ce faire, seules les études de durée comparable (2 à 4 semaines pour l'immunotoxicité, études sur 2 générations pour la reproduction) et portant sur une seule espèce (rat) ont été considérées. Les données portant sur des études chroniques donnent des résultats sensiblement différents aussi n'est-il pas possible d'extrapoler les données aux études subchroniques. En effet, des études donnent une NOAEL de 0.025 mg/kg pc pour le TBTO sur 4-6 mois ou 15-17 mois alors qu'elle est de 0.5 mg/kg pc sur 28 jours. Afin de simplifier l'étude, on ne tiendra pas compte de la spécificité de la liaison non organique et on considèrera les familles de TBT, TPT, DBT et DOT. Lorsque plusieurs valeurs étaient disponibles pour un même congénère, les valeurs minimale et maximale ont été représentées. Pour le DBT, aucune donnée sur la reproduction susceptible d'être incluse dans l'étude n'était disponible. Les valeurs retenues dans l'étude sont données dans le Tableau 10.

	Toxicité aigue (mg/kg pc) DL ₅₀	Immunotoxicité (mg/kg pc) LOAEL	Développement (mère) (mg/kg pc) NOAEL	Développement (foetus) (mg/kg pc) NOAEL	Reproduction (mg/kg pc) NOAEL
TBT	94 à 234	5	5	5	0.34
DBT	520	2.5	5	5	Pas de données
TPT	140 à 298	0.25 à 0.75	1	3.2	0.4
DOT	5500 à 8500	2.5	30	45	1.9

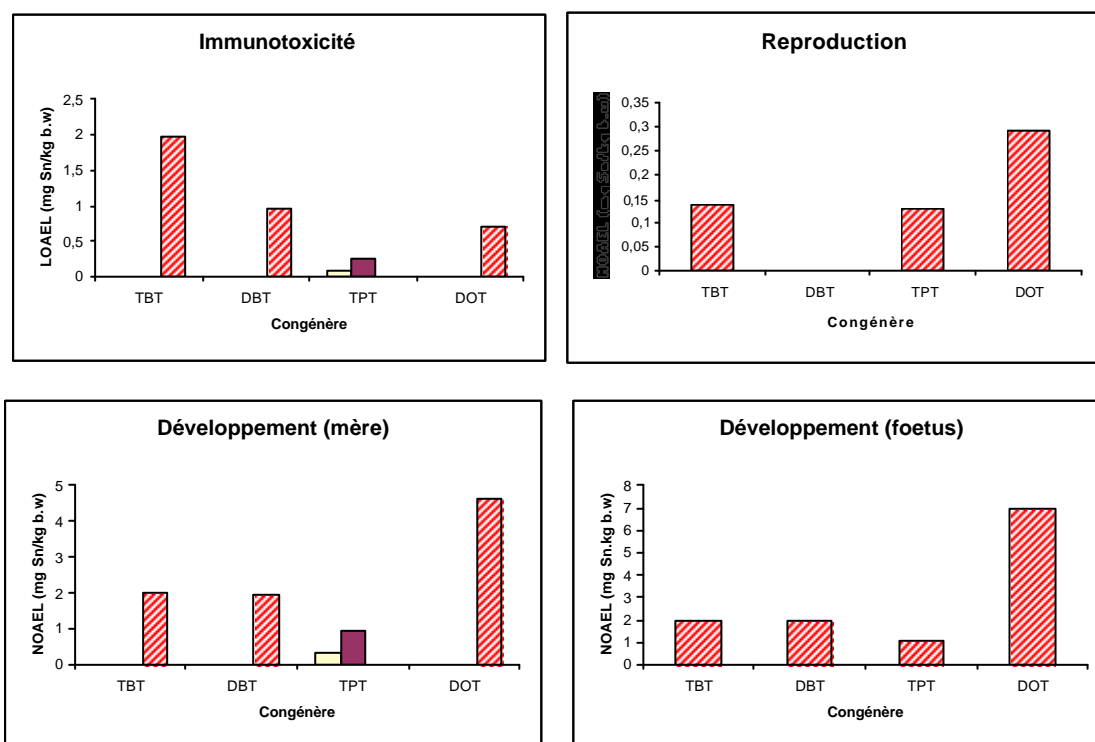
Tableau 10 : Toxicité des organoétains retenus dans l'étude

Afin de pouvoir comparer les valeurs de DL50, NOAEL et LOAEL d'un congénère à l'autre pour l'ensemble des effets, il est nécessaire de les exprimer dans la même unité. Le Tableau 11 présente les mêmes valeurs que précédemment mais exprimées en mg Sn/kg pc. L'annexe 4 présente un tableau des masses molaires des différents congénères et de leur teneur en étain utilisé pour la conversion.

	Toxicité aiguë DL ₅₀ (mg Sn/kg pc)	Immunotoxicité LOAEL (mg Sn/kg pc)	Développement (mère) NOAEL (mg Sn/kg pc)	Développement (foetus) NOAEL (mg Sn/kg pc)	Reproduction NOAEL (mg Sn/kg pc)
TBT	37 à 93	2	2	2	0,13
DBT	246	1	1,9	1,9	Pas de données
TPT	47 à 100	0,08 à 0,24	0,32 à 0,95	1	0,13
DOT	1562 à 2414	0,7	4,6	6,9	0,30

Tableau 11 : Toxicité des organoétains retenus dans l'étude exprimée en masse d'étain

Ces données sont représentées dans la Figure 7 afin de mieux visualiser la toxicité relative des congénères selon l'effet.



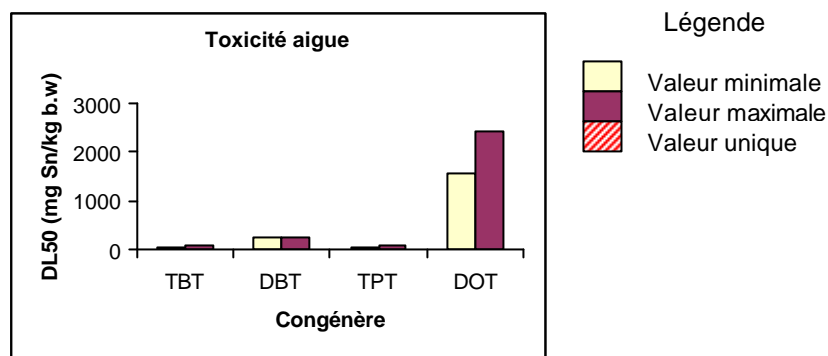


Figure 7 : Toxicité des organoétains

Plusieurs constats peuvent être formulés à partir de la figure 7.

- **Hétérogénéité de la toxicité des quatre congénères**

Pour un même effet, il y a une grande disparité dans les valeurs de toxicité de chacun des congénères.

- **Hétérogénéité des toxicités selon l'effet**

Pour la toxicité aigue et la toxicité sur le système reproductif (reproduction et développement), le profil de la toxicité des quatre congénères est semblable. Les TBT, DBT et TPT ont une toxicité voisine alors que le DOT est sensiblement moins toxique. En revanche, pour l'immunotoxicité le classement relatif de la toxicité des congénères est différent. Pour l'immunotoxicité, le TPT est le plus toxique, le DOT et le DBT ont des toxicités équivalentes et le TBT est le moins toxique. Le fait de ne pas avoir la même répartition entre les rapports de toxicité d'un effet à l'autre pose un problème quant à l'élaboration de la méthode TEF. Il ne sera en effet pas possible d'appliquer les mêmes coefficients aux composés pour l'ensemble des effets.

3.3.4 Modélisation d'une approche TEF

On se propose ici de modéliser l'élaboration d'une méthode TEF pour chacun des effets. On attribue pour chaque effet un coefficient de 1 au congénère le plus toxique, et un coefficient compris entre 0 et 1 pour les autres congénères. Ce coefficient est proportionnel à la toxicité relative des congénères les uns par rapport aux autres. Lorsque deux valeurs étaient disponibles pour un même congénère, on a considéré la moyenne. Le Tableau 12 donne les différents coefficients déterminés par cette méthode.

	Toxicité aigue	Immunotoxicité	Développement (mère)	Développement (fœtus)	Reproduction
TBT	1	0.1	0.2	0.64	1
DBT	0.32	0.2	0.2	0.64	Pas de données
TPT	0.75	1	1	1	0.85
DOT	0.02	0.2	0.03	0.07	0.18

Tableau 12 : Coefficients de toxicité de la méthode TEF

On constate qu'il est difficile d'appliquer un modèle commun à l'ensemble des effets car les valeurs sont significativement différentes d'un effet à l'autre et n'autorisent pas un classement relatif identique des congénères pour tous les effets. Le TPT reste généralement le composé le plus toxique. En revanche la toxicité relative du TBT est très variable d'un effet à l'autre.

4 DISCUSSION

4.1 Incertitudes

4.1.1 Incertitudes liées aux études toxicologiques

A) Manque de données

Dans le rapport de l'EFSA (2004), la DJA est basée sur quatre congénères qui sont considérés comme les plus toxiques et les plus étudiés. Pourtant des incertitudes subsistent dues aux manques de données sur :

- le DOT, ce qui permettrait notamment de comparer son mode d'action avec celui des autres congénères.
- les produits de dégradations des organoétains.
- les congénères et leurs métabolites présents dans l'environnement et dans les organismes et leurs proportions respectives (problème du seuil de détection).
- le comportement des congénères lorsqu'ils sont présents en mélange entre eux ou avec d'autres types de polluants (par exemple les problèmes de spécificité des effets après inhalation de peintures qui contiennent des organoétains et d'autres composés chimiques). Il est ainsi difficile de déterminer si les composés peuvent avoir des effets additifs, synergiques ou antagonistes.
- les expositions chroniques à de faibles doses d'organoétains (problème de la détermination d'une dose sans effet).
- les mécanismes d'action, notamment problème d'un composé dont l'activité est faible voire non détectable en l'état actuel des connaissances

B) Incertitudes statistiques

Il existe des critères qui permettent d'apprécier la puissance statistique d'une étude et notamment par rapport au respect de bonnes pratiques comme par exemple :

- Il faut au minimum tester trois groupes de dose et un groupe témoin avec au moins 50 animaux par groupe et ce pour chacun des deux sexes ;
- Il est nécessaire de tester deux espèces au moins ;
- Concernant l'étude de toxicité aigue : les doses administrées ne doivent pas altérer plus de 10% du gain de poids sinon la mortalité devient non spécifique.

Ces critères ne sont pas toujours respectés dans les études citées. En effet les études portent souvent sur une seule espèce, le rat. Si les études portent sur deux espèces, la deuxième est souvent la souris qui est physiologiquement proche du rat. En outre si les

études sont souvent faites pour au moins 50 animaux, en général seul l'un des deux sexes est testé.

En outre, il est difficile de comparer les études entre elles du fait de la trop grande variabilité des temps d'exposition et des durées des études (variation de plusieurs semaines à plusieurs mois).

4.1.2 Incertitudes spécifiques à la méthode des TEF

La méthode des TEF de par son fondement même, est entourée d'un certain nombre d'incertitudes. On distingue deux axes majeurs d'incertitudes.

A) Incertitudes sur la valeur d'extrapolation des TEF

Les valeurs de TEF sont en général obtenues à partir d'études animales. Ces études sont réalisées dans des conditions particulières et les valeurs de TEF qui en résultent peuvent être significativement différentes :

- Selon l'espèce
- Selon la voie d'exposition considérée, la durée et le protocole expérimental
- Selon l'organe cible
- Selon la dose et la durée d'exposition
- Selon l'effet
- A l'intérieur d'une même espèce (variabilité individuelle)

Dans notre étude les valeurs de TEF calculées sont significativement différentes selon la durée d'exposition et selon l'effet en particulier. Aussi se pose le problème de la légitimité d'une valeur unique pour représenter une telle diversité de possibilités.

B) Incertitudes liées aux interactions entre molécules

La méthode des TEF se base sur l'hypothèse d'additivité du potentiel toxique des différents composés du mélange. Comme mentionné précédemment, des incertitudes existent liées aux manques de données.

4.2 Comparaison entre la méthode TEF et la méthode de l'EFSA

4.2.1 Exemple de calculs

Afin de comparer la méthode développée par l'EFSA avec une **simulation de la méthode des TEF**, on se propose de calculer l'équivalent toxique d'un mélange de congénères.

Diverses études ont donné des teneurs en organoétains dans des mollusques de l'ordre de quelques nanogrammes à quelques centaines de nanogrammes d'organoétains par gramme de masse humide.

On considère un mélange hypothétique d'organoétains contenant 150 ng TPTOH/g, 50 ng TBTO/g et 50 ng DOTCl₂/g. On détermine la toxicité pour un individu pesant 70 kg et mangeant 100 grammes d'aliments contenant un tel mélange.

	Teneur en ng d'organoétain/g	Teneur en ng Sn/g	Teneur dans 100g en µg
TPTOH	150	48,3	4,83
TBTO	50	19,8	1,98
DOTCl₂	50	14,2	1,42.

Tableau 13 : Teneurs en organoétains

- **Détermination de la toxicité du mélange par la méthode EFSA :**

Le Tableau 13 donne la teneur dans 100 grammes d'aliments pour chacun des congénères. La dose totale d'étain ingérée est de 8,23 µg. On obtient, pour un individu de 70 kg, 0.11 µg Sn/kg pc pour l'ensemble des effets.

- **Détermination de la toxicité du mélange par la modélisation TEF**

Etant donné qu'il n'a pas été possible d'établir un modèle commun à l'ensemble des effets, on se propose de déterminer la toxicité du mélange pour l'immunotoxicité dans un premier temps puis pour la toxicité sur le développement de la mère. On reprend les coefficients déterminés en 3.3.4 et on applique la formule suivante :

$$TEQ = \sum_i TEF_i \times C_i$$

Le Tableau 14 fournit les étapes de calculs.

	Immunotoxicité	Toxicité développement (mère)
TEQ (ng TEQ/g)	$1 \times 150 + 0,08 \times 50 + 0,23 \times 50$	$1 \times 150 + 0,32 \times 50 + 0,14 \times 50$
	= 165,5	= 173
Dans 100g d'aliments ($\mu\text{g TEQ}$)	16,55	17,3
Individu de 70 kg ($\mu\text{g TEQ/kg pc}$)	0,236	0,247

Tableau 14 : TEQ pour l'immunotoxicité et la toxicité sur le développement

Un individu de 70 kg ingère donc une dose de 0,236 $\mu\text{g TEQ/kg pc}$ pour l'immunotoxicité et 0,247 $\mu\text{g TEQ/kg pc}$ pour la toxicité sur le développement.

Si on compare les valeurs obtenus par les deux méthodes, on constate que la méthode par masse d'étain donne une valeur légèrement supérieure à la DJA proposée par l'EFSA (0,1 $\mu\text{g Sn/kg pc}$) alors que la modélisation TEF donne une valeur légèrement inférieure à cette DJA (0,25 $\mu\text{g/kg pc}$).

4.2.2 Commentaires

A) Sur les calculs

Dans l'exemple pris précédemment, on arrive dans les deux calculs, raisonnement en masse d'étain et modélisation des TEF, à des valeurs proches de la DJA de 0,25 $\mu\text{g/kg de pc/jour}$ pour les congénères ou de 0,1 $\mu\text{g Sn/ kg de pc/jour}$ si on l'exprime en masse d'étain. Ainsi nous ne sommes pas en mesure de conclure sur un éventuel gain en précision avec l'une ou l'autre de deux méthodes d'autant plus qu'il n'est pas possible d'appliquer strictement la méthode des TEF.

B) Sur la méthode de l'EFSA

La démarche du groupe de travail de l'EFSA est basée sur plusieurs hypothèses :

- les effets des divers congénères sont considérés comme additifs,
- l'immunotoxicité est l'effet toxique critique pour chacun d'eux
- la toxicité est liée à la masse d'étain présent dans les molécules.

Cette dernière hypothèse exclue le rôle des liaisons organiques présentes sur l'atome d'étain et peut être remise en cause notamment car l'étain inorganique n'est pas considéré comme une molécule toxique.

Cette présente étude met en évidence des valeurs toxicologiques relativement différentes pour les effets immunotoxiques suivant les durées d'exposition. Par exemple, la NOAEL chez le rat concernant le TBTO est de 0.025 mg TBTO/kg pc/j pour une étude sur plusieurs mois et de 0.5 mg TBTO/kg pc/j pour une étude menée sur un mois. Dans sa démarche l'EFSA n'a pas a priori pris en compte la durée des expositions pour comparer les effets des congénères, ce qui peut biaiser les résultats obtenus et notamment sur le fait de considérer l'immunotoxicité comme l'effet critique. En effet pour certains congénères comme le DOT, l'effet critique serait plutôt la toxicité sur la reproduction. Le fait de considérer les durées d'exposition pour comparer les effets explique également la différence entre le document de l'EFSA et ce document quant à la valeur retenue pour l'immunotoxicité du TBTO.

C) Sur la méthode des TEF

Pour réaliser nos calculs et tenter une modélisation de la méthode des TEF, nous nous basons sur des durées d'exposition équivalentes entre 2 et 4 semaines. En effet, il n'est pas possible de comparer des données toxicologiques obtenues respectivement pour une exposition de plusieurs mois et de quelques semaines. Ainsi du fait des diverses durées d'exposition des études disponibles, il est difficile de classer les congénères relativement entre eux et ainsi de déduire que l'effet immunotoxique est véritablement l'effet critique, surtout que l'on observe une toxicité importante par exemple pour le TPT sur le système reproductif.

En outre les TEF ne sont que des ordres de grandeur de la toxicité des congénères. Ils dépendent de la dose, de l'espèce, de l'effet étudié et du protocole expérimental et ne reflètent pas la diversité des réponses toxicologiques engendrées dans les différentes espèces et les organes cibles. Pour réduire ces incertitudes il faudrait pouvoir se baser sur des concentrations tissulaires effectives, mais on manque de données sur la distribution des congénères chez l'homme dans les différents tissus.

D) Recommandations

Afin d'avoir des valeurs significatives de toxicités et pour pouvoir comparer les effets entre chaque congénère, des études chroniques sur plusieurs mois de durée semblable sont nécessaires pour chaque congénère.

Une recherche des congénères et des métabolites peut également apporter des informations intéressantes quant à leur présence, notamment dans les tissus, et leur

concentration. Ceci pose le problème de l'existence de méthode d'analyse et de détection adéquate.

CONCLUSION

L'étude tente d'apporter des éléments de réponse en ce qui concerne l'évaluation de la toxicité d'un mélange d'organoétains. Quatre familles de composés sont incluses dans la réflexion : le TBT, le DBT, le TPT et le DOT. Ce sont les composés que l'on peut retrouver dans le milieu aquatique (TBT, DBT, TPT) et les composés ayant un mode d'action similaire (DOT).

L'EFSA propose d'évaluer la toxicité d'un mélange de congénères d'organoétains à partir de la masse d'étain contenue dans celui-ci. La toxicité du mélange s'obtient en sommant les masses d'étain de chacun des composés et ne tient pas compte des substitutions organiques et inorganiques liées à l'atome d'étain.

Dans cette étude, une réflexion est menée sur la possibilité d'appliquer la méthode TEF aux organoétains. Celle-ci permet de tenir compte de la toxicité relative des congénères présents dans un mélange en leur appliquant un coefficient compris entre 0 et 1. Quatre critères régissent l'inclusion de composés chimiques dans une telle démarche. Il est démontré que les composés inclus dans l'étude vérifient ces quatre critères. Il est donc théoriquement possible d'appliquer la méthode TEF. Cependant, en pratique il n'est pas possible d'établir un classement relatif des congénères car la toxicité relative des composés est variable d'un effet à l'autre. La méthode des TEF n'est donc pas rigoureusement applicable et il est difficile de conclure quant à une éventuelle plus-value de cette méthode par rapport à celle développée par l'EFSA.

La convention internationale de l'Organisation maritime internationale (OMI) sur le contrôle des produits antisalissures interdit depuis 2003 l'application de revêtements contenant du TBT et à compter de 2008, prévoit l'élimination de tous les revêtements contenant du TBT actif des navires. En revanche, aucune réglementation n'est prévue en ce qui concerne l'utilisation d'organoétains comme stabilisateurs de PVC alors que la toxicité du dioctylétain est avérée et qu'on a pu le retrouver en concentration importante dans le sang humain. Aussi les risques liés aux organoétains restent une problématique d'actualité malgré la réglementation qui a commencé à se mettre en place.

Bibliographie

Amodio Cocchieri R., Cirillo T., Amorena M., Cavaliere M., Lucisano A. and Del Prete U (2000). Alchyltin in farmed fish and shellfish. *J. Food Science and Nutrition*, 51: 147-151. Alzieu, C. (1989). L'étain et les organoétains en milieu marin. *Biogéochimie et écotoxicologie. Rapports scientifiques et techniques de l'IFREMER n°17*. 93p.

Bennett, R.F. (1996). Industrial manufacture and applications of tributyltin compounds. In: Tributyltin: case study of an environmental contaminant. S.J. de Mora (Ed.). Cambridge University Press, UK. pp.21-61.

Blair, WR, Olson, G.J, Brinckman, F.E et Iverson, W.P (1988). Accumulation and fate of tributyltin species in microbial biofilms. *OCEAN'S 88 Conference Proceedings Organotin symposium, Vol.4, p.1668-1672, Baltimore Maryland, 31 oct. 2 nov 1998*.

Blunden, S.J. & Chapman, A. (1986) Organotin compounds in the environment. In: Craigh, P.J., ed. *Organometallic compounds in the environment*, Harlow, Essex, Longman Group Ltd, pp. 111-159.

Borgert CJ, Quill TF, McCarty LS, Mason AM (2004). Can mode of action predict mixture toxicity for risk assessment? *Toxicol Appl Pharmacol*. 2004 Dec 1;201(2):85-96.

Bryan, G.W. et Gibbs, P.E. (1991). Impact of low concentrations of tributyltin (TBT) on marine organisms: a review. In: *Metal ecotoxicology: concepts and applications* (ed. M.C. Newman & A.W. McIntosh), pp. 323-361. Boston: Lewis Publishers Inc.

Cardwell, R. D., and A. W. Sheldon (1986). A risk assessment concerning the fate and effects of tributyltins in the aquatic environment. Pages 1117-1129 in G. L. Maton (ed.). *Proceedings Oceans 86 Conference, September 23-25, 1986, Washington, D.C. Volume 4. Organotin symposium*. Avail. from Marine Technology Society, 2000 Florida Ave. N.W., Washington, D.C.

CEC (1978). Organotin compounds. Pages 1-18 in *Noxious effects of dangerous substances in the aquatic environment*. Comm. European Commun., Environ. Consumer Serv., Rustenborgvej 7, 2800 Copenhagen, Denmark.

Cooke G. et al (2003). Absorption quotidienne des organoétains chez l'homme et leur toxicité pour le système immunitaire et pour la reproduction chez les mammifères

Directive 1999/51/CE de la Commission, du 26 mai 1999, portant cinquième adaptation au progrès technique de l'annexe I de la directive 76/769/CEE du Conseil concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des États membres relatives à la limitation de la mise sur le marché et de l'emploi de certaines substances et préparations dangereuses [étain, pentachlorophénol (PCP) et cadmium] (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE). *Journal officiel n° L 142 du 05/06/1999 p.22-25*

EFSA (2004). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission to assess the health risks to consumers associated with exposure to organotins in foodstuffs (Question N° EFSA-Q-2003-110). Adopted on 22 September 2004. *The EFSA Journal* (2004) 102, 1-119

Eisler, R (1989) Tin hazards to fish, wildlife and invertebrates: a synoptic review. US Fish and Wildlife Service Biological Report 85(1.15), p. 83.

Evans, S.M. et T. Leksono (1995). The use of whelks and oysters as biological indicators of pollution from anti-fouling paints. J. Biol. Edu. 29:97-102.

Gennari, A., Viviani, B., Galli, C.L., Marinovich, M., Pieters, R. and Corsini, E (2000). Organotins induce apoptosis by disturbance of $[Ca^{2+}]_i$ and mitochondrial activity, causing oxidative stress and activation of caspases in rat thymocytes. Toxicol. Appl. Pharmacol. 169:185-190.

Gennari, A., Bol, M., Seinen, W., Penninks, A. and Pieters, R (2002b). Organotin-induced apoptosis occurs in small CD4(+)CD8(+) thymocytes and is accompanied by an increase in RNA synthesis. Toxicology 175:191-200.

Guard HE, Cobet AB et Coleman WM (1981). Methylation of trimethyltin compounds by estuarine sediments. Science, 213, p.770-771

INERIS (2005) - Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Oxyde de bis(tributyl)étain. Institut National d'Evaluation des Risques Industriels et Sanitaires. INERIS –DRC-02-25590-02DF52.doc

Krug, H.F. 2002a. Death signals by environmental pollutants. Nachrichten 34:61-68.

Krug, H.F. 2002b. Metals in clinical medicine: the induction of apoptosis by metal compounds. Mat. -wiss. u. Werkstofftech. 33:770-774.

Laughlin, R. B., Jr., R. B. Johannesen, W. French, H. Guard, et F. E. Brinckman (1985a). Structure-activity relationships for organotin compounds. Environ. Toxicol. Chem. 4:343-351.

Laughlin, R. B., Jr., et O. Linden (1985b). Fate and effects of organotin compounds. Ambio 14:88-94.

Laughlin, R. B., Guard H. E., *et al.* (1986). "Tributyltin in seawater: speciation and octanol-water partition coefficient." Environment Science Technology 20: p. 201-204.

Laughlin, R. B., Jr., W. French, and H. E. Guard (1986a). Accumulation of bis(tributyltin) oxide by the marine mussel *Mytilus edulis*. Environ. Sci. Technol. 20:884-890.

Maguire RJ (1984) Butyltin compounds and inorganic tin in sediments in Ontario. Environ.Sci.Technol.,18,p.291-294

Maguire, R. J., P. T. S. Wong, and J. S. Rhamey (1984). Accumulation and metabolism of tri-n-butyltin cation by a green alga, *Ankistrodesmus falcatus*. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 41:537-540.

Maguire, R. J., and R. J. Tkacz (1985). Degradation of the tri-n-butyltin species in water and sediment from Toronto Harbor. J. Agric. Food Chem. 33:947-953.

Meijer, Lisethe, Peters, Ruud J.B., Sauer et Pieter JJ (2004). Substances chimiques industrielles dans le sang humain, niveau de 46 substances chimiques dans un échantillon de population néerlandaise. Greenpeace Pays-bas, Groningen.

Mensink BP, Ten-Hallers-Tjabbes CC, Kralt J, Freriks IL, Boon JP (1996) Assessment of imposex in the common whelk, *Buccinum undatum* (L.) from the Eastern Scheldt, The Netherlands. Marine environmental research, 41 (4) : 315-325

Miller, K., Maisey, J. and Nicklin, S (1986a). Effect of orally administered dioctyltin dichloride on murine immunocompetence. Environ. Res. 39:434-441.

Miller, K., Scott, M.P., Hutchinson, A.P. and Nicklin, S (1986b). Suppression of thymocyte proliferation *in vitro* by a dioctyltin dichloride-induced serum factor. Int. J. Immunopharmacol. 8:237-241.

Règlement (CE) N° 782/2003 du Parlement européen et du Conseil du 14 avril 2003 interdisant les composés organostanniques sur les navires [Journal officiel L 115 du 09.05.2003].

Seligman PF, GROVHOUG J.G et Richter KE (1986b). Measurements of butyltins in San Diego Bay, CA : A monitoring strategy. OCEAN'S 86 Conference Proceedings. Organotin symposium. Vol4, p.1146-1151. Washington 23-25 septembre 1986

Shiraishi H, Soma M (1992) Triphenyltin compounds in mussels in Tokyo Bay after restriction of use in Japan. Chemosphere, 24 (8) : 1103-1109

Smith, M.D., Grant, M.H., Blass, C.R., Courtney, J.M. and Barbenel, J.C (1995). Poly(vinyl chloride) formulations: acute toxicity to cultured human cell lines. J. Biomater. Sci. Polym. Ed 7:453-459.

Soderquist C, Crosby DG (1980) Degradation of triphenyltin hydroxide in water. Journal of agricultural and food chemistry, 28 : 111-117

Staeb JA, Traas TP, Stroomberg G, Van-Kestern J, Leonards P, Van-Hattum B, Brinkman UA, Cofino WP (1996) Determination of organotin compounds in the foodweb of a shallow freshwater lake in the Netherlands. Archives of environmental contamination and toxicology 31 (3) : 319-328.

Takeuchi M, Mizuishi K, Yamanobe H, Watanabe Y, Doguchi M (1989) Hygienic chemical studies on organotin compounds (VI). Content of tributyltin

Tam, P.E. and Hinsdill, R.D (1984). Evaluation of immunomodulatory chemicals: alteration of macrophage function *in vitro*. Toxicol. Appl. Pharmacol. 76:183-194.

Tam, P.E. and Hinsdill, R.D (1990). Screening for immunomodulators: effects of xenobiotics on macrophage chemiluminescence *in vitro*. Fundam. Appl. Toxicol. 14:542-553.

Tas JW, Oppe Vizen A, Seinen W (1990) Uptake and elimination kinetics of triphenyltin hydroxide by two fish species. Toxicology and environmental chemistry, 28 : 129-141

Thain JE, Waldock MJ et Waite ME (1987) toxicity and degradations studies of tributyltin TBT and dibutyltin DBT in the aquatic environment. OCEAN'S 87 Conference proceedings organotin symposium. Vol4, p.1398-1402

Thompson, J.A.J., M.G. Sheffer, R.C. Pierce, Y.K. Chau, J.J. Cooney, W.R. Cullen et R.J. Maguire (1985). Organotin compounds in the aquatic environment: Environmental quality. NRCC 22494. National Research Council Canada, Ottawa, Canada. 287 pp.

Tugrul S, Balkas, TI, GOLDBERG G.E et SALIHOGLU,I (1982). The speciation of alkyltin compounds in the marin environment. IVe journées Etud. Pollutions, Cannes CIESM, p.497-504

US EPA (1987) Tributyltin support document. Washington, DC, US Environmental Protection Agency, Office of Pesticides and Toxic Substances, Office of Pesticide Programs.

Van den Berg Martin, Richard E. Peterson and Dieter Schrenk (2000), Human risk assessment and TEFs, Food Additives and Contaminants, Vol 17, No.4, 347-358

Van den Berg *et al.* Toxic Equivalency Factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for Humans and Wildlife (1998). Environmental Health Perspectives, Vol 106. No 12.

Vidy. Anne (2002). Evaluation de l'exposition de la population générale aux mélanges complexes de dioxines et composés voisins. La méthode des Facteurs d'Equivalence de Toxicité. Mémoire de fin d'études. ENSP.

Vos, J.G., De Klerk, A., Krajnc, E.I., Van Loveren, H. and Rozing, J. 1990. Immunotoxicity of bis(tri-n-butyltin)oxide in the rat : effects on thymus-dependent immunity and on nonspecific resistance following long-term exposure in young versus aged rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 105 : 144-155.

Walker, C.H., S.P. Hopkin, R.M. Sibly et D.B. Peakall (2001). Principles of ecotoxicology. Second Edition. Taylor & Francis.

Watanabe, I. (1980). Organotins (triethyltin). Pages 545-557 in P. S. Spencer and H. C. Schaumburg (eds.). Experimental and clinical neurotoxicology. Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland.

Webber, R.J., Dollins, S.C., Harris, M. and Hough, A.J. Jr (1985). Effect of alkyltins on rabbit articular and growth-plate chondrocytes in monolayer culture. J. Toxicol. Environ. Health 16:229-242.

Wester, P.W., Krajnc, E.I., Van Leeuwen *et al.* (1988). Two Years feeding study in rats with bis(tri-n-butyltin)oxide (TBTO). Report (658112 003) from the National Institute of Public Health and Environmental Hygiene, Bilthoven, Netherlands.

Wester, P.W., Krajnc, E.I., Van Leeuwen F.X., Loeber, J.G, Van Der Heijden, C.A., Vaessen, H.A. and Helleman, P.W. (1990). Chronic toxicity and carcinogenicity of bis(tri-n-butyltin)oxide (TBTO) in the rat. Fd. Chem. Toxic. 28. 179-196.

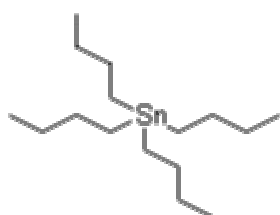
Liste des annexes

ANNEXE 1: STRUCTURE CHIMIQUE DES ORGANOETAINS ETUDIES DANS LE DOCUMENT DE L'EFSA	3
ANNEXE 2 : TOXICITE AIGUE DES CONGENERES CONSIDERES DANS LE DOCUMENT DE L'EFSA	5
ANNEXE 3 : EFFETS TOXIQUES DES ORGANOETAINS	7
ANNEXE 4 : FORMULE, MASSE MOLAIRE ET POURCENTAGE D'ETAIN POUR CHAQUE CONGENERE.....	17

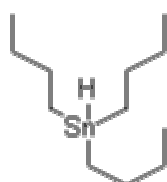
ANNEXE 1: Structure chimique des organoétains étudiés dans le document de l'EFSA

Des groupements se substituent sur les atomes d'étains (Sn). Ces groupements sont des chaînes carbonées ou des cycles aromatiques. La fixation de groupements organiques, alkyl ou aryl, sur un élément métallique a pour conséquence d'accroître le caractère lipophile de la molécule.

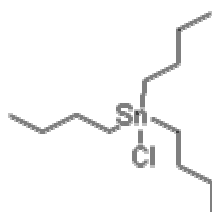
✓ Butylétains :



Tétra-butylétain TeTBT ($C_{16}H_{36}Sn$)



Tri-butylétain TBT ($C_{12}H_{28}Sn$)



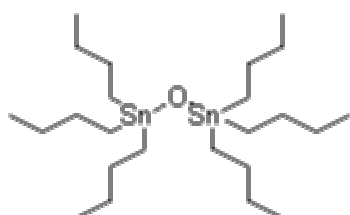
Chlorure de tri-butylétain TBTCl
($C_{12}H_{27}ClSn$)



Oxyde de di-butylétain DBTO ($C_8H_{18}OSn$)



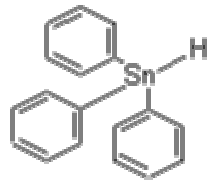
Dichlorure de di-butylétain DBTCl₂
($C_8H_{18}Cl_2Sn$)



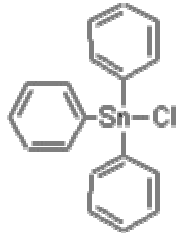
Oxyde de tri-butylétain TBTO ($C_{24}H_{54}OSn_2$)

✓ **Phénylétains :**

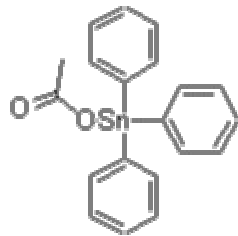
Les groupements substitués sont des cycles aromatiques.



Triphénylétain TPT ($C_{18}H_{16}Sn$)



Chlorure de triphénylétain TPTCl
($C_{18}H_{15}ClSn$)



Acétate de triphénylétain ($C_{20}H_{18}O_2Sn$)

ANNEXE 2 : Toxicité aiguë des congénères considérés dans le document de l'EFSA

Données de DL 50, doses administrées par voie orale

Congénère	Espèce	DL 50 (mg/kg pc/j)
TPT	Rat	140 – 298
	Souris	81 – 93
DOT		>1000 mg/kg pc
DOTC		5500 – 8500 mg/kg
TBTO	Rat	94 – 234 mg/kg
	Souris	44 – 230 mg/kg
TBTCl	Souris	Entre 58.6mg/kg et 54.7mg/kg
DBTCl	Rat mâle	100 mg/kg
DBTO	Rat mâle	520 mg/kg
DBTCl (OMS)	Souris	25 mg/kg
DBTO (OMS)	Souris	24 mg/kg

Source : EFSA, 2004

ANNEXE 3 : Effets toxiques des organoétains

Congénère	Durée de l'expérience	Espèce	Voie et dose d'exposition	DL 50 ou NOAEL ou LOAEL (mg/kg pc/j)	Type d'effet	Organe	Réf.
ABSORPTION ET DISTRIBUTION							
TBTO	Toxicité aigue (1 seule prise)	Rat	Oral : 113 Sn (25 mg/kg)			Foie et reins (C imp) Cerveau, graisses	
	Toxicité aigue	Rat	Oral : 113 Sn (25 mg/kg)			Foetus	
	14 jours	Rat	Oral (5mg/kg)	3.5 à 2.8 fois la dose aigue max = 7.4		Foie et reins	
	30 jours	Souris	Oral (eau) Faibles doses			Forte dose : Foie, reins, rate, graisses Faible dose : muscle, poumon, cerveau Très faible : sang	Evans et Al
TOXICITE AIGUE				DL50			
TBTO		Rat	Oral	94 à 234 mg/kg			
		Souris	Oral	44 à 230 mg/kg			
TBTCI		Souris	Oral (58.6mg/kg)		Hepatotoxicité		
			Oral (54.7mg/kg)		Pas Hepatotoxicité		
DBTCI		Rat mâle	Oral	100 mg/kg			
DBTO				520 mg/kg			
DBTCI		Souris	Oral	25 mg/kg			OMS
DBTO		Souris	Oral	24 mg/kg			OMS
DOT			Oral	>1000 mg/kg pc			OMS, 1980

Congénère	Durée de l'expérience	Espèce	Voie et dose d'exposition	DL 50 ou NOAEL ou LOAEL (mg/kg pc/j)	Type d'effet	Organe	Réf.
DOTC			Oral	5500 – 8500 mg/kg			
TPTOH		rat	oral	140 – 298 mg/kg pc/j			
TPT ¹		souris		81 – 93 mg/kg pc/j			
TOXICITE CHRONIQUE							
EFFETS IMMUNOTOXIQUES							
TBTO	4 semaines	Rats	Oral : 0, 5, 20, 80, 320 mg/kg		Perte de poids, faiblesse, perte d'appétit. Pas de mortalité. Diminution du poids cerveau, cœur, foie, reins, rate Atrophie hépatocellulaire	Cerveau, reins, foie, thymus	
			320 mg/kg				
			320, 80, 20 mg/kg				
TBTO	6 semaines	Rats	Oral : 0, 20, 80 mg/kg		Diminution sérum insuline et activité thyroïde. Augmentation production cellules LH		Krajnc <i>et al.</i> 1984
TBTO		Rats	Oral : 0, 20, 80 mg/kg	LOAEL = 0.4 mg/kg pc/j	Sinus érythrocytes dans ganglions lymphatiques : le + sensible		Bressa <i>et al.</i> 1991
TBTO	22 semaines	Singes	Oral : 0, 0.160 mg/kg		Diminution nb leucocytes pdt semaine 8-10 et 16-20		Karrer <i>et al.</i>
DBTCI	6 mois		Oral : 50 à 100 mg/kg		Diminution poids corporel, changement biochimique et hématologique, effets sur le foie, système immunitaire. Dégâts sur foie	Foie, Système immunitaire	

Congénère	Durée de l'expérience	Espèce	Voie et dose d'exposition	DL 50 ou NOAEL ou LOAEL (mg/kg pc/j)	Type d'effet	Organe	Réf.
DOT	90 jours (2 études)	Rat	Oral	NOAEL = 300 mg/kg pc	Augmentation poids des reins avec changements micro et macroscopiques	Reins, thymus, cerveau	
					Diminution du poids du thymus (dose : 150 mg/kg pc)		
					Augmentation du ratio adrenal / cerveau (dose : 100 et 500 mg/kg) revenant à la normale après 30 jours au repos		
TPT ¹	13 semaines	Rat 2 sexes	Oral 100mg/kg diet		Augmentation des enzymes du sérum Femelle : diminution cellules du sang		
TPTOH			Oral 20mg/kg diet	1.56-1.72 (NOAEL)	Basé sur paramètres hématologiques et biochimiques		
TPT ¹	3 mois	souris	Oral 100mg/kg diet		Réduction du nombre d'érythrocyte et du niveau d'hémoglobine Augmentation du nombre de plaquette Diminution des IgA, IgG, IgM (femelles)	Foie (augmentation du poids) Femelle : ovaire, adrenals, reins, cœur, cerveau (diminution)	Suter and Horst, 1986
TPTOH			Oral 20mg/kg diet	3.44-4.12 (NOAEL)	Basé sur paramètres hématologiques et biochimiques		
TPT ¹	1 an	chien	Oral 18mg/kg diet	0.593 (NOAEL)	Basé sur paramètres hématologiques et biochimiques		Sachose et al., 1987
CANCEROGENICITE							
TBT	2 ans	Rats	Oral : 0, 0.5, 5 et 50mg/kg	NOAEL = 0.5 ppm soit 0.025 mg/kg pc	Augmentation nb tumeurs bénignes		Wester et al 1988
			50 mg/kg		Augmentation mortalité (fin de l'étude). Diminution poids corporel. Tumeurs « endocrines ». Effets sur ? paramètres (système endocrinien, hématologie)		

Congénère	Durée de l'expérience	Espèce	Voie et dose d'exposition	DL 50 ou NOAEL ou LOAEL (mg/kg pc/j)	Type d'effet	Organe	Réf.
TBTO	18 mois	Souris	Oral : 0, 5, 25, 50 mg/kg		Augmentation mortalité mais pas d'augmentation des tumeurs		Daly 1992
DBT	2 ans	Souris	Oral : 76 et 152 ppm		Pas d'augmentation du nb tumeurs		
		Rats	Oral : 66.5 et 133 ppm				
MOTS DOT	2 ans	Rat	Oral : 0, 4.95, 14.5, 45.5 et 115.4 mg/kg		Augmentation du nb de lymphomes du thymus, légère augmentation de lymphomes malignes chez femelles aux doses les + élevées. En dessous de 14.5 mg/kg pas d'augmentation du nb de tumeurs.	Thymus	
TPTOH	Sur 2 ans	Rat 2 sexes	Oral 0.1mg/kg pc	0.1 (NOAEL)	<i>Basé sur effets sur système immunitaire</i> Réduction du poids du <i>spleen</i> , du nb de globules et du poids du thymus Pas d'incidence croissante sur tumeurs au-dessus de 0.5mg/kg p.c./j	Tumeur aux testicules	Til <i>et al.</i> , 1970
TPT ¹	80 semaines	Souris 2 sexes	Oral 80mg/kg <i>diet</i>		Diminution du poids Pas d'incidence croissante sur adénomes hépatocellulaires pour les deux sexes et carcinomes chez femelles au-dessus de 21.76mg/kg p.c./j		Tennekes <i>et al.</i> , 1989
TPTOH			Oral 5mg/kg <i>diet</i>	1.3mg/kg p.c./j (NOAEL)	<i>Basé sur diminution de gain du poids chez femelle</i> Diminution de la concentration en immunoglobuline		

Congénère	Durée de l'expérience	Espèce	Voie et dose d'exposition	DL 50 ou NOAEL ou LOAEL (mg/kg pc/j)	Type d'effet	Organe	Réf.
GENOTOXICITE							
Le TBT n'est pas génotoxique d'après USEPA et OMS							Davis <i>et al.</i>
Octylétains : pas de propriétés génotoxiques (Approuvée par SCF)							
DBT	2 ans	Rats	Oral : 76 et 152 ppm		Pas d'augmentation du nb de tumeurs		
		Souris	Oral : 66.5 et 133 ppm				
Les phénylétains sont non génotoxiques a priori <i>in vitro</i> . Difficile à mettre en évidence <i>in vivo</i> .							
IMMUNOTOXICITE : Effet critique pour TBT et DBT							
TBTO	6 semaines	Rats	Oral : 0, 20, 80 mg/kg		Suppression des réponses des anticorps, des réponses retardées liées à l'hypersensitivité, de la résistance aux infections <i>Trichinella spiralis</i>		Vos <i>et al.</i> 1984, 1985
TBTO	4-6 mois 15-17 mois	Rats	Oral : 0, 0.5, 5, 50 mg/kg	NOAEL = 0.5 mg/kg Benchmark dose = 0.68 mg/kg	Pas de différence majeure entre 4-6 mois et 15-17 mois. Diminution poids du thymus et des cellules T + résistance réduite aux L. monocytogènes (50mg/kg) Résistance au T.spiralis	Thymus	Vos <i>et al.</i> 1990 US EPA
			50 mg/kg				
			5, 50 mg/kg				

Congénère	Durée de l'expérience	Espèce	Voie et dose d'exposition	DL 50 ou NOAEL ou LOAEL (mg/kg pc/j)	Type d'effet	Organe	Réf.
TBTCI	Exposition Utéro et postnatale	Rattes enceintes	Oral : 0, 0.025, 0.25, 2.5 mg/kg à partir du 8ème jour de grossesse	NOAEL = 0.025 mg/kg pc	Transfert indétectable vers bébés rats. Pas d'effet sur poids, conso nourriture, sexe ratio, prise de poids. Courbe de croissance modifiée. Mâle : diminution thyroxine sérum. Femelle : diminution poids foie (0.025 et 2.5). Pas de lésions histologiques au niveau du foie. Augmentation réponse non linéaire de l'activité cellule NK. Augmentation IgM + Augmentation nb L. monocytogènes	Thyroïde pour mâles. Foie pour femelles Système immunitaire <i>Effets à faibles doses sur croissance nouveaux nés, enzymes du foie, cellules immunitaires pas significatifs</i>	
			> 0.25 mg/kg		Diminution sérum de triglycérides, créatines ou magnésium et amylase. Augmentation IgG et nb lymphocytes T. Augmentation réponse oxazolone		
			2.5 mg/kg		Diminution poids du thymus et rate. Augmentation cellules NK		
DBTCI ₂				DL50= 18mg /kg	Diminution poids du thymus		Snoeij <i>et al.</i> 1988
DBTCI			DL50= 29 mg/kg				
DBT	6 semaines	Rats	Oral 50 et 150 mg/kg		Diminution poids du thymus + réponse humorale et cellules immunitaires	Thymus	Seinen <i>et al.</i> 1977
		Souris Hamster			Pas de réponse		
TBT + DBT				Pas de NOAEL LOAEL = 50 mg/kg soit 2.5 mg/kg pc	Action similaire DBT + TBT. Atrophie du thymus serait causée par métabolites du DBT		Snoeij <i>et al.</i> 1988

Congénère	Durée de l'expérience	Espèce	Voie et dose d'exposition	DL 50 ou NOAEL ou LOAEL (mg/kg pc/j)	Type d'effet	Organe	Réf.
DOT		Rat		50 ppm	Atrophie du thymus de manière équivalente au DBT.	Thymus	Seinen <i>et al.</i> 1976, 1977a,b 1979
				50 et 150 ppm	Diminution de la réponse retardée d'hypersensibilité diminution de la réponse antivirus		
					Pas d'effet dur réponse humorale et fonctions macrophages		
		Souris Porcs		Pas d'effets			
TPTOH	3 semaines	Rat	Oral	0.25 (LOAEL)	Diminution des lymphocytes du sang et éosinophiles A 25mg/kg diet réduction du poids du thymus et de l'hypersensibilité (réponse mitogène des cellules de la rate)	Thymus, rate	Vos <i>et al.</i> , 1983, 1984
TPTCI	2 semaines	Rat	Oral	0.75 (LOAEL)	Réduction du poids du thymus et de la rate	Thymus, rate	Snoeij <i>et al.</i> 1985
TPTOH	28 jours	Souris	Oral 5 mg/kg diet	1 (NOAEL)	Effets réversibles : réduction du poids du thymus et rate, du nb de globules blancs, lymphocytes b dans la rate, lymphocytes T dans le thymus, immunglobuline		McCormick et Thomas, 1990
TPTAc		Porc	Oral 1.5 mg/kg pc/j		Diminution du poids du thymus, du nb de cellules du plasma de la rate (après 47 et 77j) Inhibition de la réaction immunologique <i>anti-tétanos</i>		Verschuuren <i>et al.</i> , 1970
SYSTEME REPRODUCTIF							
TBT				Pas de NOAEL LOAEL = 0.25 mg/kg pc			Ogata <i>et al.</i> , Oumara <i>et al.</i> 2001

Congénère	Durée de l'expérience	Espèce	Voie et dose d'exposition	DL 50 ou NOAEL ou LOAEL (mg/kg pc/j)	Type d'effet	Organe	Réf.
DBTCI				NOAEL = 5 mg/kg pc	Tératogénicité et embryotoxicité + Toxicité maternelle		Farr <i>et al.</i> 2001
TBT + DBT					Troubles du métabolisme de stéroïdes sexuels		Heidrich <i>et al.</i> 2001 Doering <i>et al.</i> 2002
TBT					Peut activer transcription AR dans cellules mammaires		
80%DOTT G 20%MOTT G		Rat	Oral : 0, 20, 60, 200 mg/kg	NOAEL = 1.9 mg/kg pc /j ou 1.5 mg/kg pc/j pour DOTTG			SCF (1999)
	Jour 6-15 de grossesse	Rat	Oral : 0, 1, 5, 2 mg/kg pc /j	NOAEL = 5 mg/kg pc/j soit 0.77 mg Sn/kg pc/j	Augmentation de nb de décès foetus aux doses élevées. Pas de changements structuraux irréversibles.		
	Jours 6-18 grossesse	Lapins Mères	Oral : 1, 10, 100 mg/kg pc/j	NOAEL = 100 mg/kg pc/j	Anomalie du squelette		Schering Ag, 1992, non publié
		Lapins Fœtus		NOAEL = 1 mg/kg pc/j soit 0.15 mg Sn/kg pc/j			
Jours 6-17 grossesse	Souris Fœtus	Oral : 20, 30, 45, 67, 100 mg/kg pc/j	NOAEL = 45 mg/kg pc /j			Faqi <i>et al.</i> 2001	
	Souris Mère		NOAEL = 30 mg/ kg pc/j				
TPTOH		Rat		0.4 (NOEL)	<i>Basé sur la diminution de taille des descendants, de leur poids et du rapport poids rate/poids thymus</i> Toxicité sur la reproduction		Young, 1986
TPT ¹	Sur 2 générations	Rat, lapin, hamster	Petites doses	0.4 (NOAEL)	Réduction de la taille du nouveau-né, gain de poids Toxicité sur le développement		

Congénère	Durée de l'expérience	Espèce	Voie et dose d'exposition	DL 50 ou NOAEL ou LOAEL (mg/kg pc/j)	Type d'effet	Organe	Réf.
TPT ¹		Lapin	gavage, 6-18j de gestation	0.1 (NOAEL)	<i>Basé sur réduction de gain du poids</i> Toxicité maternelle		Rodwell, 1987
TPT ¹		Lapin	gavage, 6-18j de gestation	0.3 (NOAEL)	<i>Basé sur perte de poids du fœtus</i> Fœtotoxicité		
NEUROTOXICITE							
TPT ¹	Intoxication				Syndrome cérébral Problème auditif et perte de connaissance avec activité paroxysmique		Wu <i>et al.</i> , 1990 Lin <i>et al.</i> , 1998
TPTOAc		Rat	Gavage : 6 semaines, 6j/sem	0.36 (LOAEL)	<i>Basé sur perte de performances dans test d'apprentissage</i>		Lehotzky <i>et al.</i> , 1982

¹ Des études de toxicité limitées de DPT et MPT, métabolites de TPT, sont disponibles mais comme ils apparaissent durant le métabolisme chez l'animal, les études de toxicité de TPT sont également des tests pour DPT et MPT.

ANNEXE 4 : Formule, masse molaire et pourcentage d'étain pour chaque congénère

Composés	Formule	Masse molaire	% Sn
Tétra-butylétain TeBT	$C_{16}H_{36}Sn$	347.15	34.0
Tri-butylétain TBT (TBTH)	$C_{12}H_{28}Sn$	291.04	40.5
Chlorure de tri-butylétain TBTCI	$C_{12}H_{27}ClSn$	325.48	36.2
Oxyde de di-butylétain DBTO	$C_8H_{18}OSn$	248.92	47.4
Dichlorure de di-butylétain DBTCI ₂ (DBTC)	$C_8H_{18}Cl_2Sn$	303.82	38.8
Tri-phénylétain TPT (TPH)	$C_{18}H_{16}Sn$	351.01	33.6
Chlorure de tri-phénylétain TPTCl	$C_{18}H_{15}ClSn$	385.46	30.6
Acétate de tri-phénylétain TPTAc	$C_{20}H_{18}O_2Sn$	409.05	28.8
Hydroxyde de tri-phénylétain TPTOH	$C_{18}H_{16}OSn$	367.01	32.2
Oxyde de di-n-octylétain DOTO	$C_{16}H_{34}OSn$	361.13	32.7
Dichlorure de di-n-octylétain DOTCl ₂ (DOTC)	$C_{16}H_{34}Cl_2Sn$	416.04	28.4
Oxyde de tri-butylétain TBTO	$(C_{12}H_{27}Sn)_2O$	596.07	39.6