

## **AVIS**

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

**relatif à l'évaluation des risques sanitaires liés à la présence de  
N-nitrosomorpholine dans l'eau destinée à la consommation humaine**

---

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.*

*L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.*

*Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.*

*Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).*

*Ses avis sont rendus publics.*

---

La Direction générale de la santé (DGS) a saisi l'Anses le 13 juillet 2012 d'une demande d'évaluation des risques sanitaires liés à la présence de N-nitrosomorpholine dans les eaux destinées à la consommation humaine (EDCH).

#### **1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE**

La Délégation territoriale de Seine-Normandie (DT 76) de l'Agence régionale de santé (ARS) de Haute-Normandie a informé la DGS de la mise en évidence, dans le cadre de la campagne nationale de mesures des nitrosamines menée par le Laboratoire d'hydrologie de l'Anses à Nancy (LHN) à la demande de la DGS, de N-nitrosomorpholine (NMOR) dans l'eau brute et l'EDCH de communes proches de Lillebonne (environ 9 000 habitants).

Dans ce contexte, la DGS a saisi l'Anses d'une demande d'évaluation des risques sanitaires liés à la présence de N-nitrosomorpholine dans les EDCH.

#### **2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE**

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

L'expertise relève du domaine de compétence des comités d'experts spécialisés (CES) « Eaux » (pilote) et « Chimie ». L'Anses a confié la construction de la valeur toxicologique de référence pour une exposition chronique par voie orale au groupe de travail « Valeurs toxicologiques de référence II ». Un rapporteur du CES « Eaux » a été nommé et les travaux ont été présentés et validés par les CES « Eaux » et « Chimie » tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques les 4 et 20 septembre 2012 respectivement.

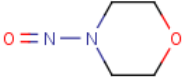
### 3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DES CES

#### 3.1. Propriétés physico-chimiques de la *N*-nitrosomorpholine

La *N*-nitrosomorpholine est une nitrosamine se présentant sous forme de cristaux jaunes à température ambiante. Elle est totalement soluble dans l'eau et dans les solvants organiques polaires. Elle est stable à l'obscurité en solution neutre ou alcaline pendant au moins deux semaines. Elle s'avère moins stable à la lumière et est sensible en particulier aux rayonnements ultraviolets (UV) (IARC, 1978). Enfin, elle présente une stabilité moindre à pH acide (NTP, 2011).

Le tableau I résume les principales propriétés physico-chimiques de la *N*-nitrosomorpholine.

Tableau I : principales données physico-chimiques de la *N*-nitrosomorpholine (d'après RoC, NTP, 2011)

Numéro CAS	59-89-2
Formule chimique brute	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Formule développée	
Masse molaire	116,1
Point de fusion	29°C
Point d'ébullition	224-225°C (à 747 mm Hg)
log K <sub>ow</sub>	-0,44
Solubilité dans l'eau	Très soluble (1000 g/L à 24°C)
Constante de Henry	2,45.10 <sup>-8</sup> atm·m <sup>3</sup> /mole à 37 °C
Pression de vapeur	0,036 mm Hg à 25°C

#### 3.2. Origines et sources de contamination de l'environnement

Les composés *N*-nitrosés sont formés à partir de précurseurs (substrats nitrosables ; amines primaires ou secondaires) qui peuvent être présents dans les procédés industriels agro-alimentaires ou présents dans le corps humain (Schothorst et Somers, 2005). Les composés *N*-nitrosés ont été identifiés dans plusieurs variétés de légumes, de fruits, de fromages, de viandes et boissons alcoolisées (Brunnemann *et al.*, 1982). Ils peuvent se former à partir d'amines ou de sels d'ammonium quaternaires par réaction avec des agents nitrosants comme les nitrites, présents dans l'estomac (voie endogène) ou dans les procédés agro-alimentaires, par exemples les charcuteries (voie exogène). La quantification de ces expositions chez l'Homme n'est pas connue.

La *N*-nitrosomorpholine fait partie de la famille des composés *N*-nitrosés. La morpholine est une amine secondaire connue pour être utilisée notamment dans l'industrie pharmaceutique comme intermédiaire de synthèse de nombreux principes actifs et dans l'industrie du caoutchouc. La morpholine peut facilement être transformée en *N*-nitrosomorpholine en présence de nitrite, aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*. La *N*-nitrosomorpholine peut être présente sur les sites de fabrication de pneumatiques, à l'état de traces dans la viande transformée par l'industrie agro-alimentaire, dans le tabac ainsi que dans des produits cosmétiques (Robichova *et al.*, 2004a).

Dans le cas rapporté par l'ARS Haute-Normandie, les origines potentielles de la contamination des eaux brutes et distribuées par la *N*-nitrosomorpholine seraient les rejets d'une industrie pharmaceutique utilisant la morpholine dans ses procédés et la

contamination d'anciennes friches industrielles où furent implantés notamment des sites de fabrication de caoutchouc.

### 3.3. Données de contamination de l'eau destinée à la consommation humaine

Dans le cadre de la campagne nationale d'analyse en cours sur différents polluants émergents dans les EDCH (instruction DGS), des teneurs anormalement élevées en nitrosamines ont été relevées sur un des sites échantillonnés en Seine-Maritime.

Il n'existe pas de norme française ou internationale pour le dosage des nitrosamines dans les eaux. Une méthode, basée sur une extraction liquide / solide et une analyse par couplage de chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse en tandem (CG-SM/SM) a été publiée par l'agence américaine pour la protection de l'environnement (US EPA, 2004) pour la détermination de sept nitrosamines dans les eaux. Toutefois la *N*-nitrosomorpholine n'a pas été incluse dans cette liste.

A ce jour, un seul laboratoire français est accrédité et agréé dans le cadre du contrôle sanitaire des eaux pour le dosage de cette molécule. Un essai inter-laboratoire organisé en 2011 par le LHN auprès de différents laboratoires français et étrangers a permis de recenser et d'évaluer les pratiques. Parmi les six laboratoires français ayant participé à cet essai, cinq ont pu doser la *N*-nitrosomorpholine. Les méthodes d'extraction mises en œuvre sont généralement basées sur de l'extraction liquide / solide (charbon actif) et dans une moindre mesure sur de l'extraction liquide / liquide. Les méthodes de détection font appel autant à la CG-SM/SM qu'à la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (CLHP-SM/SM).

Dans le contexte de la contamination des eaux en Seine-Normandie, les analyses ont été réalisées par le LHN par extraction liquide / solide (SPE) puis CLHP-SM/SM. La limite de quantification (LQ) est de 10 ng/L et la limite de détection (LD), de 3 ng/L. Les incertitudes intra-laboratoire élargies ( $k=2$ ) sont de l'ordre 20 %.

Le tableau II résume les données disponibles concernant la contamination des EDCH par la *N*-nitrosomorpholine pour des prélèvements réalisés dans 13 communes de la communauté de communes Caux-Vallée de la Seine (Seine-Maritime) entre le 12 mars et le 23 juillet 2012.

Tableau II : Résultats des données de contamination des eaux destinées à la consommation humaine par la *N*-nitrosomorpholine pour des prélèvements réalisés dans 13 communes de la communauté de communes Caux-Vallée de la Seine (Seine-Maritime) entre le 12 mars et le 23 juillet 2012

Type d'installation	n	% de résultats supérieurs à la LQ*	Concentration minimum	Concentration maximum
CAP (eaux brutes)	26	69,2 %	< 10 ng/L	2360 ng/L
TTP (sortie d'installation de traitement)	18	66,7 %	< 10 ng/L	2290 ng/L
UDI (robinet du consommateur)	19	63,2 %	< 10 ng/L	1670 ng/L

\* la limite de quantification est de 10 ng/L

### 3.4. Traitements réduisant la teneur en *N*-nitrosomorpholine dans les eaux

Dans la mesure où une biodégradation des nitrosamines peut être observée notamment en conditions aérobies (Nawrocky et Andrzejewski, 2011), le charbon actif en grain pourrait montrer une certaine efficacité. Néanmoins, il existe peu d'information spécifique relative à l'efficacité des traitements de l'EDCH pour la *N*-nitrosomorpholine. Dans le contexte de la contamination des eaux en Seine-Normandie, les essais conduits par les traiteurs d'eau ont montré que l'efficacité du charbon actif en poudre (CAP) était très limitée. Il n'apparaît pas de solution de traitement évidente pour diminuer les concentrations en *N*-nitrosomorpholine dans les EDCH à des teneurs de l'ordre de la centaine de nanogrammes par litre. Il n'a pas été trouvé de résultats relatifs à l'efficacité du traitement de la *N*-nitrosomorpholine dans l'EDCH par les rayonnements UV, et les produits de photodégradation de cette molécule ne sont pas connus.

La *N*-nitrosomorpholine a aussi été décrite comme sous-produit de désinfection dans les filières de traitement des eaux, en particulier lorsque la chloramination est appliquée ce qui n'est pas le cas en France (Zhao *et al.*, 2008 ; Wang *et al.*, 2011 ; Jurado-Sanchez *et al.*, 2012).

### 3.5. Effets sur la santé

#### 3.5.1. Toxicité aigüe par voie orale de la *N*-nitrosomorpholine

Il n'y a pas de donnée relative à la toxicité aigüe chez l'Homme. Les données animales montrent que la *N*-nitrosomorpholine présente une toxicité aigüe moyenne à élevée par voie orale en fonction de l'espèce considérée. La DL<sub>50</sub> orale chez le rat est de 282 mg/kg p.c. (Merck Index, 13<sup>th</sup> édition). Chez le hamster syrien mâle, la DL<sub>50</sub> est de 956 mg/kg p.c. et de 1149 mg/kg p.c. chez la femelle (Ketkar *et al.*, 1983).

Selon les critères de l'Union européenne, ces données conduiraient à classer la *N*-nitrosomorpholine comme substance nocive.

#### 3.5.2. Génotoxicité de la *N*-nitrosomorpholine

Les études *in vitro* montrent le potentiel mutagène de la *N*-nitrosomorpholine, avec ou sans activation métabolique. La *N*-nitrosomorpholine est clastogène et forme des adduits à l'ADN *in vivo* et *in vitro* (Chung *et al.*, 1986 ; Futakuchi *et al.*, 1999 ; Korr *et al.*, 2001 ; Robichova et Slamenova, 2001, Robichova *et al.*, 2004a,b ; Wagner *et al.*, 2012).

Le test UDS réalisé chez des rats traités par voie orale à des doses de 10 à 200 mg/kg p.c. de *N*-nitrosomorpholine étaient positifs (synthèse d'ADN non programmée) à 2,5 h ou 12 h après administration. De même, des rats traités par voie orale à des doses de 10 à 100 mg/kg p.c. suivi d'un test du micronoyau sur hépatocytes après stimulation mitogénique montrent des résultats positifs du test du micronoyau (Ashby et Lefèvre, 1989).

Les dommages à l'ADN induits par la *N*-nitrosomorpholine (cassures simple brin et double brin, des cassures de brins de l'ADN mitochondrial et des adduits cycliques de l'ADN) sont induits après activation métabolique, mais également par la formation d'espèces réactives de l'oxygène ou de l'azote (ROS / RNS) (Robichova *et al.*, 2004a).

En conclusion, la *N*-nitrosomorpholine est génotoxique *in vitro* et *in vivo* (mutagène, clastogène, et formation d'altérations primaires de l'ADN).

### 3.5.3. Données de cancérogénicité par voie orale

Après administration chronique par voie orale, la *N*-nitrosomorpholine induit des tumeurs bénignes et malignes hépatiques et pulmonaires chez la souris, des tumeurs hépatiques, rénales et vasculaires chez le rat et des tumeurs hépatiques et pulmonaires chez le hamster.

Le tableau III résume les principales études toxicologiques sur animaux portant sur les effets liés à une exposition chronique orale de *N*-nitrosomorpholine *via* l'eau de boisson.

Tableau III : Résumé des principales données de cancérogénicité animales après une exposition chronique par voie orale dans l'eau de boisson de *N*-nitrosomorpholine

Espèce animale	Concentration / Dose	Durée de l'exposition	Effets observés	Référence
Souris mâle NMRI	100 mg/L Soit environ 16 mg/kg p.c./j	Vie entière	Tumeurs hépatiques Tumeurs pulmonaires	Bannasch et Müller, 1964 ; Müller, 1964 <i>in</i> IARC, 1978
Souris femelle A/J	0,2 µmol/mL	10 semaines	Tumeurs pulmonaires	Hecht <i>et al.</i> , 1989
Rats BD	8 mg/kg p.c./j	Vie entière	Tumeurs hépatiques	Druckrey <i>et al.</i> , 1967 <i>in</i> IARC, 1978
Rats SD	4 mg/semaine	30 semaines	Tumeurs hépatiques	Lijinsky et Taylor, 1975 <i>in</i> IARC, 1978
Rats BD	60, 120 ou 200 mg/L	7 semaines, 12 semaines ou vie entière	Tumeurs hépatiques	Bannasch, 1968, 1975 <i>in</i> IARC, 1978
Rats SD	500 mg/L	3 semaines	Tumeurs des voies biliaires Tumeurs hépatiques	Bannasch et Reiss, 1971 <i>in</i> IARC, 1978
Rats SD	120 ou 500 mg/L	Entre 3 et 14 semaines	Tumeurs rénales	Bannasch <i>et al.</i> , 1974 <i>in</i> IARC, 1978
Rats SD	8 ou 40 mg/L	30 semaines	Tumeurs hépatiques	Lijinsky <i>et al.</i> , 1976 <i>in</i> IARC, 1978
Rats F344	16 ou 40 mg/L	50 semaines, 5 jours/semaine	Tumeurs hépatiques Tumeurs de l'œsophage	Lijinsky et Reuber, 1982
Hamster syrien	Mâles : 0 ; 1,2 ; 6 et 12 mg/kg p.c./j Femelles : 0 ; 1,36 ; 6,82 et 13,6 mg/kg p.c./j	Vie entière	Tumeurs hépatiques Tumeurs pulmonaires	Ketkar <i>et al.</i> , 1983
Rat F344 femelle	0 ; 0,07 ; 0,18 ; 0,45 ; 1,1 ; 2,6 et 6,4 mg/L	100 semaines, 5 jours/semaine	Tumeurs hépatiques	Lijinsky <i>et al.</i> , 1988
Rat F344 femelle	26,5 mg/L	50 semaines	Tumeurs hépatiques	Hecht <i>et al.</i> , 1989

SD : Sprague-Dawley ; BD : Berlin-Druckrey

Les études de Ketkar *et al.* (1983) et de Lijinsky *et al.* (1988) ont été retenues, en raison du nombre de doses testées (supérieures à 3), des durées d'exposition et parce que ces deux études sont parmi les dernières études publiées.

Ketkar *et al.* (1983) ont exposé durant la vie entière des hamsters mâles et femelles (30 animaux par sexe et par groupe) à la *N*-nitrosomorpholine dans l'eau de boisson à des doses de 0,001 ; 0,005 et 0,01 % ce qui correspondait à 1/50 ; 1/40 et 1/20 de la DL<sub>50</sub> (*cf.* paragraphe 3.5.1). Un groupe témoin (50 animaux par sexe) recevait de l'eau de boisson non traitée *ad libitum*. Les auteurs ont observé une augmentation de l'incidence des tumeurs bénignes et malignes du tractus respiratoire (principalement des polypes

papillaires ainsi que des carcinomes papillaires et épidermoïdes du larynx et de la trachée) et du tractus gastro-intestinal (principalement des tumeurs hépatiques, incluant des adénomes et carcinomes hépatocellulaires) chez les animaux des deux sexes. Ces types de tumeurs n'étaient pas rapportés chez les animaux du lot témoin.

Le tableau IV résume les incidences de tumeurs induites par la *N*-nitrosomorpholine administrée dans l'eau de boisson et rapportées par Ketkar *et al.* (1983) chez les hamsters syriens.

Tableau IV : Nombre d'animaux porteurs d'au moins une tumeur induite par la *N*-nitrosomorpholine administrée dans l'eau de boisson chez les hamsters syriens d'après Ketkar *et al.* (1983) (doses moyennes en mg/kg p.c./j rapportées par Gold *et al.* (1987)).

Dose moyenne (mg/kg p.c./j)	Type de tumeurs	Nombre d'animaux porteurs d'au moins une tumeur *
0	Tumeurs du tractus respiratoire chez les mâles	0/50
1,2		8/29
6		13/29
12		21/30
0	Tumeurs hépatiques chez les mâles	0/50
1,2		4/29
6		9/29
12		18/30
0	Tumeurs du tractus respiratoire chez les femelles	0/50
1,36		14/28
6,82		16/30
13,6		22/30
0	Tumeurs hépatiques chez les femelles	0/50
1,36		0/28
6,82		2/30
13,6		6/30

\*Nombre d'animaux porteurs d'au moins une tumeur sur le nombre d'animaux traités.

Lijinsky *et al.* (1988) ont mené une étude de cancérogénicité chez le rat femelle F344 traité pendant 25, 40, 50 ou 100 semaines, 5 jours par semaine, à différentes doses de *N*-nitrosomorpholine.

Dans l'étude sur 100 semaines d'exposition, les animaux du groupe témoin ne présentaient pas de carcinome hépatocellulaire ou d'hémangiosarcome. Il y avait une relation dose-réponse significative pour l'incidence des carcinomes hépatocellulaires chez les animaux exposés. Les données d'incidence d'hémangiosarcomes montraient aussi une relation dose-réponse significative bien qu'étant plus faibles que pour celles des carcinomes hépatocellulaires. Le tableau V résume les données d'incidence de tumeurs hépatiques rapportées dans cette étude chez le rat F344 femelle.

Tableau V : Incidences de carcinomes hépatocellulaires et d'hémangiosarcomes rapportées chez le rat femelle F344 exposé pendant 100 semaines aux concentrations (mg/L) et doses (mg.kg p.c.<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>) d'exposition journalière moyennes citées dans la publication de Lijinsky *et al.* (1988)

<b>Concentration d'exposition journalière (mg/L)</b>	0	0,07	0,18	0,45	1,1	2,6	6,4
<b>Dose d'exposition journalière<sup>1</sup> (mg.kg p.c.<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>)</b>	0	0,006	0,016	0,039	0,096	0,226	0,557
<b>Incidence de carcinomes hépatocellulaires*</b>	0/80	1/100	0/99	0/47	1/48	7/48	16/24
<b>Incidences d'hémangiosarcomes*</b>	0/80	0/100	0/99	0/47	0/48	5/48	13/24

\*Nombre d'animaux atteints sur le nombre d'animaux traités.

### 3.5.4. Classement quant à la cancérogénicité de la *N*-nitrosomorpholine

Selon le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC), il existe suffisamment de preuves de la cancérogénicité de la *N*-nitrosomorpholine obtenues à partir de plusieurs études expérimentales chez l'animal. Malgré l'absence de données épidémiologiques chez l'Homme, la *N*-nitrosomorpholine peut être considérée comme cancérogène chez l'Homme. Le CIRC classe cette molécule dans le groupe 2B (cancérogène possible chez l'Homme) (IARC, 1978).

L'US EPA n'a pas classé cette substance quant à sa cancérogénicité. L'Union européenne n'a pas évalué cette substance.

### 3.6. Valeurs toxicologiques de référence

Aucun organisme international d'évaluation des risques sanitaires n'a proposé de valeur toxicologique de référence (VTR) pour la *N*-nitrosomorpholine excepté l'Office of Environmental Health Hazard Assessment de Californie (OEHHA) en 1992.

En 1992, l'OEHHA a proposé des excès de risque unitaire (ERU) par voie orale et par inhalation respectivement de 6,7 (mg/kg p.c./j)<sup>-1</sup> et de 0,0019 (µg/m<sup>3</sup>)<sup>-1</sup> à partir des données publiées par Gold *et al.* (1987) issues de l'étude de Ketkar *et al.* (1983) chez le hamster.

Pour l'établissement de la VTR sans seuil d'effet par voie orale, l'OEHHA a appliqué le modèle linéaire multi-étape de Crump *et al.* (1977) aux données d'incidence de tumeurs du tractus respiratoire chez les hamsters femelles (choix du type de tumeurs et du sexe de l'animal en fonction de la sensibilité). L'ajustement au modèle utilisé étant médiocre, l'OEHHA n'a retenu pour établir la relation dose-réponse que la plus faible dose, ce qui limitait la modélisation à une simple droite.

Le groupe de travail « Valeurs toxicologiques de référence (VTR) II » de l'Anses a estimé que le choix de l'effet critique (tumeurs du tractus respiratoire chez le hamster femelle) et la méthode de modélisation de la relation dose-réponse n'étaient pas pertinents pour retenir cette VTR.

<sup>1</sup> La conversion des concentrations d'exposition en mg/L dans l'eau de boisson en mg.kg p.c.<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> a été réalisée en multipliant la concentration par 20 ml (volume d'eau de boisson ingéré par jour et par rat) et en divisant par 0.23 kg (poids corporel de l'animal). Les données de consommation hydrique et de poids corporel sont issues de la publication de Lijinsky *et al.* (1988).

Au regard de l'ensemble de ces éléments issus des données expérimentales, les experts ont retenu l'augmentation de l'incidence des carcinomes hépatocellulaires comme effet critique pour établir une VTR orale. Ce type de tumeur, décrit dans plusieurs études, est retrouvé chez trois espèces animales et apparaît aux doses les plus faibles par rapport aux autres tumeurs.

Le groupe de travail « VTR II » a retenu l'étude de Lijinsky *et al.* (1988) chez le rat F344 femelle pour l'élaboration d'une VTR chronique par voie orale. En effet, les experts considèrent cette étude comme la plus robuste et la plus détaillée : l'incidence des tumeurs seules est spécifiée par type histopathologique plus précisément dans l'étude de Lijinsky *et al.* (1988) comparativement à l'étude de Ketkar *et al.* (1983).

Le groupe de travail « VTR II » a appliqué la méthodologie de l'Anses pour la construction de la VTR (Anses, 2010a, b). Compte tenu de la génotoxicité de la *N*-nitrosomorpholine, les experts ont établi une VTR sans seuil de dose.

La relation dose-réponse entre l'augmentation des carcinomes hépatocellulaires chez le rat femelle F344 et la dose journalière d'exposition (*cf.* tableau V) a été modélisée avec le logiciel BMDS 2.1.1 de l'US EPA.

L'objectif de la démarche est d'estimer la dose (*Benchmark Dose* ou BMD) correspondant à un niveau de réponse défini ou à un pourcentage défini de réponse supplémentaire par rapport au témoin (*Benchmark Response level* ou BMR). Classiquement, la BMDL, autrement dit la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95% de la BMD, est retenue comme dose repère pour déterminer l'excès de risque unitaire (ERU) par extrapolation linéaire à l'origine.

Parmi différents modèles testés<sup>2</sup>, le modèle multi-étapes montre le meilleur ajustement (Figure 1) et les doses critiques calculées sont égales à 0,180 mg.kg<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> pour la BMD<sub>10%</sub> et à 0,147 mg.kg<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> pour la BMD<sub>10%</sub> L<sub>95%</sub>.

---

<sup>2</sup> L'identification du modèle le plus adapté passe par la détermination à l'aide du logiciel de deux variables : la p-value qui, lorsque cette dernière est supérieure à 0,1, montre que le modèle utilisé est considéré non significativement différent des données expérimentales et l'AIC (Akaike Information Criterion) qui est un critère permettant de sélectionner le modèle le plus adapté pour la détermination de la BMD, le modèle présentant l'AIC le plus faible étant retenu.



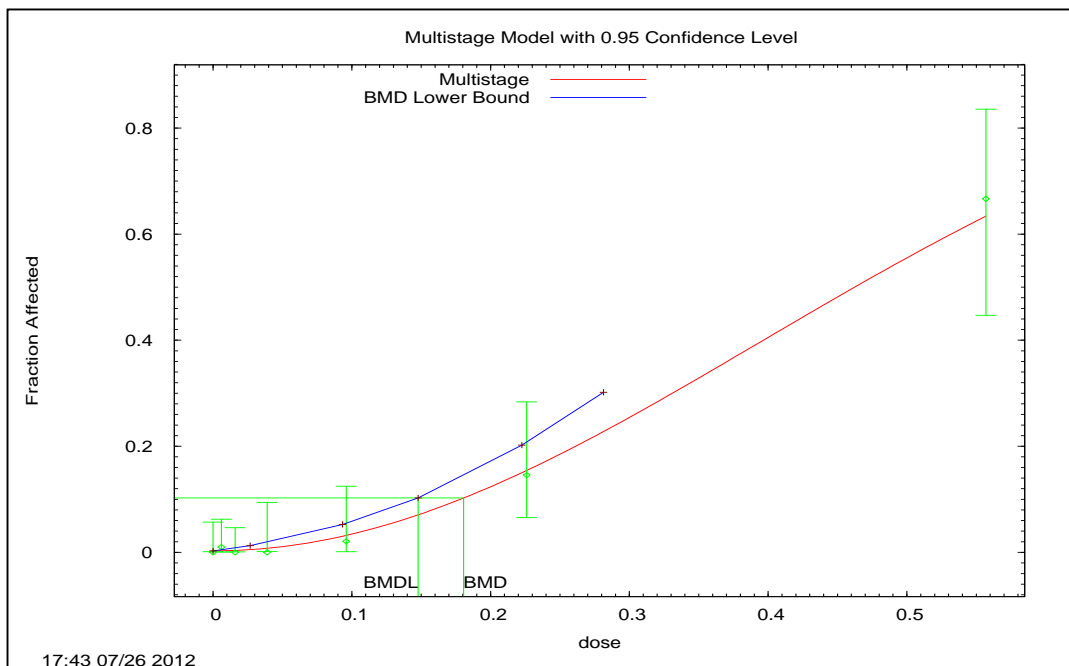


Figure 1 : Courbe dose réponse de l'incidence de carcinomes hépatocellulaires induits par la *N*-nitrosomorpholine chez le rat F344 femelle à partir de l'étude de Lijinsky *et al.* (1988)

Sachant que les animaux ont été exposés 5 jours par semaine pendant 100 semaines, la  $BMD_{10\%L_{95\%}}$  ajustée au temps est donc de  $0,147 \times 5/7 \text{ mg.kg p.c.}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$  soit une  $BMD_{10\%L_{95\%}aj} = 0,10 \text{ mg.kg p.c.}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ .

Un ajustement allométrique permet, à l'aide de l'équation suivante<sup>3</sup> :

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

de calculer une dose équivalente chez l'Homme ( $BMD_{10\%L_{95\%}ajHED}$ ) de  $0,025 \text{ mg.kg p.c.}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ .

Le calcul de la pente ou excès de risque unitaire se fait suivant la formule :

$$ERU = BMR / BMD_{10\%L_{95\%}ajHED}$$

Le tableau VI résume les caractéristiques de la VTR sans seuil d'effet par voie orale de la *N*-nitrosomorpholine.

Tableau VI : Synthèse des caractéristiques de la VTR sans seuil d'effet par voie orale de la *N*-nitrosomorpholine

Effet critique	Dose critique	VTR
Carcinomes hépatocellulaires chez le rat F-344 femelle	A partir des données chez l'animal $BMD_{10\%L_{95\%}} = 0,147 \text{ mg.kg p.c.}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$	Après extrapolation linéaire à l'origine
Étude de cancérogénicité chez le rat F344 femelle	Exprimé en dose équivalente chez l'Homme $BMD_{10\%L_{95\%}ajHED} = 0,025 \text{ mg.kg p.c.}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$	$ERU = 4,0 \text{ (mg.kg p.c.}^{-1} \cdot \text{j}^{-1})^{-1}$
Lijinsky <i>et al.</i> (1988)		

<sup>3</sup> Cette équation est issue des recommandations de l'US EPA (US EPA, 2006). Le poids corporel moyen de la ratte est de 230 g (d'après Lijinsky *et al.* (1988)), celui de l'Homme de 70 kg.

### 3.7. Valeur de référence dans l'eau destinée à la consommation humaine

Aucun organisme international d'évaluation des risques sanitaires n'a proposé de valeur limite dans l'EDCH pour la *N*-nitrosomorpholine. L'OEHHA<sup>4</sup>, sans proposer de « notification level », considère qu'une valeur de 5 ng/L est associée à un excès de risque individuel de 10<sup>-6</sup>.

A partir de l'ERU par voie orale de 4 cas de cancer en excès par mg.kg p.c.<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> précédemment calculé, et considérant un scénario d'exposition correspondant à une consommation vie entière de 2 litres par jour d'EDCH pour un individu adulte d'une masse de 70 kg :

- la valeur limite dans l'EDCH associée à un excès de risque individuel (ERI) de 10<sup>-6</sup> qui est la valeur retenue habituellement par les agences nord-américaines, serait de 8,8 ng/L, valeur arrondie à **10 ng/L** ;
- la valeur limite dans l'EDCH associée à un ERI de 10<sup>-5</sup> qui est la valeur retenue habituellement par l'OMS (OMS, 2011), serait de 88 ng/L, valeur arrondie à **100 ng/L**.

<sup>4</sup> site Internet de l'OEHHA <http://www.cdph.ca.gov/certlic/drinkingwater/Pages/NDMA.aspx>, consulté le 26 juin 2012.

#### 4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

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

- constate que la *N*-nitrosomorpholine est difficilement éliminable dans les filières de traitement de l'eau destinée à la consommation humaine à des niveaux de concentration de l'ordre du nanogramme par litre ;
- estime, au regard des données toxicologiques actuelles, que la consommation journalière d'eau de boisson présentant une concentration en *N*-nitrosomorpholine inférieure à 100 ng/L n'entraîne pas d'excès de risque pour la santé des consommateurs supérieur à  $10^{-5}$  ;
- considère que de nouvelles données de toxicité chronique par voie orale pourraient utilement compléter et réactualiser les données actuellement disponibles.

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail recommande de mettre en œuvre les moyens permettant de ramener la concentration en *N*-nitrosomorpholine au moins au niveau de la valeur limite dans les meilleurs délais.

**Le directeur général**

Marc Mortureux

#### MOTS-CLES

*N*-NITROSOMORPHOLINE, EAU DESTINEE A LA CONSOMMATION HUMAINE, RISQUE SANITAIRE

**BIBLIOGRAPHIE**

- Anses (2010 a). Guide méthodologique : élaboration de valeurs toxicologiques de référence, édition scientifique, février 2010.
- Anses (2010 b). Méthode de construction de valeurs toxicologiques de référence pour les substances chimiques cancérogènes, édition scientifique, Mars 2010.
- Ashby, J., Lefevre, P.A. (1989) The rat-liver carcinogen N-Nitrosomorpholine initiates unscheduled DNA synthesis and induces micronuclei in the rat liver in vivo. *Mutation Research*, 225 (4), 143-147.
- Bannasch, P. & Müller, H.-A. (1964) Lichtmikroskopische Untersuchungen über die Wirkung von N-Nitrosomorpholin auf die Leber von Ratte und Maus. *Arzneimittel-Forsch.*, 14, 805-814
- Bannasch, P. (1968) The cytoplasm of hepatocytes during carcinogenesis. Electron- and lightmicroscopical investigations of the nitrosomorpholine intoxicated rat liver. *Recent Results Cancer Res.*, 19, 1-100
- Bannasch, P. & Reiss, W. (1971) Histogenese und Cytogenese cholangiocellulärer Tumoren bei Nitrosomorpholine-vergifteten Ratten. Zugleich ein Beitrag zur Morphogenese der Cystenleber. *Z. Krebsforsch.*, 76, 193-215
- Bannasch, P., Schacht, U. & Storch, E. (1974) Morphogenese und Mikromorphologie epithelialer Nierentumoren bei Nitrosomorpholin-vergifteten Ratten. I. Induktion and Histologie der Tumoren. *Z. Krebsforsch.*, 81, 311-331
- Bannasch, P. (1975) Die Cytologie der Hepatocarcinogenese. In: Altmann, H.-W. et al., eds, *Handbuch der Allgemeinen Pathologie*, Vol. 6, Berlin, Springer, 123-276
- Brunnemann, K.D., Hecht, S.S., Hoffmann, D. (1982) N-nitrosamines: Environmental occurrence, in vivo formation and metabolism. *Journal of Toxicology - Clinical Toxicology*, 19 (6-7), 661-688.
- Chung, F.L., Hecht, S.S., Palladino, G. (1986) Formation of cyclic nucleic acid adducts from some simple alpha, beta-unsaturated carbonyl compounds and cyclic nitrosamines. *IARC scientific publications*, (70), 207-225.
- Crump KS, Guess HA, and Deal.LL (1987) Confidence intervals and test of hypotheses concerning dose response relations inferred from animal carcinogenicity data. *Biometrics* 33: 437-451.
- Druckrey, H., Preussmann, R., Ivankovic, S. & Schmähl, D. (1967) Organotrope carcinogene Wirkungen bei 65 verschiedenen N-Nitroso-Verbindungen an BD-Ratten. *Z. Krebsforsch.*, 69, 103-201
- Futakuchi, M., Hirose, M., Ogiso, T., Kato, K., Sano, M., Ogawa, K., Shirai, T. (1999) Establishment of an in vivo highly metastatic rat hepatocellular carcinoma model. *Japanese Journal of Cancer Research*, 90 (11), 1196-1202.
- Gold, L.S., Slone, T.H., Backman, G.M., Magaw, R., Da Costa, M., Lopipero, P., Blumenthal, M., Ames, B.N. (1987) Second chronological supplement to the carcinogenic potency database: standardized results of animal bioassays published through December 1984 and by the National Toxicology Program through May 1986. *Environmental Health Perspectives*, 74, 237-329.
- Hecht, S.S., Lijinsky, W., Kovatch, R.M., Chung, F.-L., Saavedra, J.E. (1989) Comparative tumorigenicity of N-nitroso-2-hydroxymorpholine, N-nitrosodiethanolamine and N-Nitrosomorpholine in A/J mice and F344 rats. *Carcinogenesis*, 10 (8), 1475-1477.

- IARC (1978) *N-Nitrosomorpholine*. In *Some N-nitroso Compounds*. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, vol. 17. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 263-280.
- Jurado-Sánchez, B., Ballesteros, E., Gallego, M. (2012) Occurrence of aromatic amines and N-nitrosamines in the different steps of a drinking water treatment plant. *Water Research*, 46 (14), pp. 4543-4555.
- Ketkar, M.B., Holste, J., Preussmann, R., Althoff, J. (1983) Carcinogenic effect of nitrosomorpholine administered in the drinking water to Syrian golden hamsters. *Cancer Letters*, 17 (3), 333-338.
- Korr, H., Botzem, B., Schmitz, C., Enzmann, H. (2001) N-Nitrosomorpholine induced alterations of unscheduled DNA synthesis, mitochondrial DNA synthesis and cell proliferation in different cell types of liver, kidney, and urogenital organs in the rat. *Chemico-Biological Interactions*, 134 (2), 217-233.
- Lijinsky, W. & Taylor, H.W. (1975) Increased carcinogenicity of 2,6-dimethylnitrosomorpholine compared with nitrosomorpholine in rats. *Cancer Research*, 35, 2123-2125
- Lijinsky, W., Taylor, H.W. & Keefer, L.K. (1976) Reduction of rat liver carcinogenicity of 4-nitrosomorpholine by  $\alpha$ -deuterium substitution. *Journal of the National Cancer Institute*, 57, 1311- 1313
- Lijinsky, W., Reuber, M.D. (1982) Comparative carcinogenesis by nitrosomorpholines, nitrooxazolidines and nitrosotetrahydrooxazine in rats. *Carcinogenesis*, 3 (8), 911-915.
- Lijinsky, W., Kovatch, R.M., Riggs, C.W., Walters, P.T. (1988) Dose response study with N-Nitrosomorpholine in drinking water of F-344 rats. *Cancer Research*, 48 (8), 2089-2095.
- Müller, H.-A. (1964) Morphologische Untersuchungen zur Wirkung von *N*-Nitrosomorpholin auf die Lunge der Maus. *Z. Krebsforsch.*, 66, 303-309
- National Toxicology Program N-Nitrosamines (15 listings): N-Nitrosomorpholine (2011) Report on carcinogens : carcinogen profiles / U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, National Toxicology Program, 12, 319-320.
- Nawrocki, J., Andrzejewski, P. (2011) Nitrosamines and water. *Journal of Hazardous Materials*, 189 (1-2), 1-18.
- Office of Environmental Health Hazard Assessment (1992) Expedited cancer potency values and proposed regulatory levels for certain proposition 65 carcinogens. Cal EPA. 94 pp.
- Robichová, S., Slameňová, D., Gábelová, A., Sedlák, J., Jakubíková, J. (2004a) An investigation of the genotoxic effects of N-Nitrosomorpholine in mammalian cells. *Chemico-Biological Interactions*, 148 (3), 163-171.
- Robichová, S., Slameňová, D., Chalupa, I., Šebová, L. (2004b) DNA lesions and cytogenetic changes induced by N-Nitrosomorpholine in HepG2, V79 and VH10 cells: The protective effects of Vitamins A, C and E. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 560 (2), 91-99.
- Robichová, S., Slameňová, D. (2001) Study of N-Nitrosomorpholine-Induced DNA Strand Breaks in Caco-2 Cells by the Classical and Modified Comet Assay: Influence of Vitamins E and C. *Nutrition and Cancer*, 39 (2), 267-272.
- Schothorst, R.C., Somers, H.H.J. (2005) Determination of N-nitrosodiethanolamine in cosmetic products by LC-MS-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 381 (3), pp. 681-685.

The Merck Index, 13th edition (2001) An encyclopedia of chemicals, drugs and biological. 1818 pp.

US EPA (2006) Harmonization in Interspecies Extrapolation: Use of BW<sup>3/4</sup> as a Default Method in Derivation of the Oral RfD (external review draft, EPA/630/R-06/001) Ref Type: Report

US EPA (2004) Determination of nitrosamines in drinking water by solid phase extraction and capillary column gas chromatography with large volume injection and chemical ionization tandem mass spectrometry (MS/MS). EPA 521 version 1.0

Wagner, E.D., Hsu, K.-M., Lagunas, A., Mitch, W.A., Plewa, M.J. (2012) Comparative genotoxicity of nitrosamine drinking water disinfection byproducts in Salmonella and mammalian cells. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 741 (1-2), 109-115.

Wang, W., Ren, S., Zhang, H., Yu, J., An, W., Hu, J., Yang, M. (2011) Occurrence of nine nitrosamines and secondary amines in source water and drinking water: Potential of secondary amines as nitrosamine precursors. *Water Research*, 45 (16), 4930-4938.

World Health Organisation (2011) Guidelines for drinking-water quality. Fourth edition. 541 pp.

Zhao, Y.-Y., Boyd, J.M., Woodbeck, M., Andrews, R.C., Qin, F., Hrudey, S.E., Li, X.-F. (2008) Formation of N-nitrosamines from eleven disinfection treatments of seven different surface waters. *Environmental Science and Technology*, 42 (13), 4857-4862.