

## 2

## Hématotoxicité et immunotoxicité

La première expertise collective Inserm (Inserm, 1999) sur les risques pour la santé liés à l'exposition aux éthers de glycol a décrit trois types d'effets hématotoxiques pour les substances de cette famille chimique :

- des effets hémolysants observés avec l'EGBE et son acétate, ainsi que, à un moindre degré, avec l'EGnPE, l'EGiPE, l'EGPhE, le DEGBE et leurs acétates ;
- une hypoplasie médullaire et des cytopénies périphériques, portant plus particulièrement sur les granulocytes, avec l'EGME, l'EGEE et leurs acétates, le DEGDME, ainsi que, à un moindre degré, avec l'EGnPE, le DEGME et leurs acétates ;
- un effet lymphopéniant, éventuellement associé à une immunosuppression, avec l'EGME, l'EGEE, le DEGME et leurs acétates, ainsi que, à un moindre degré, avec l'EGnPE et son acétate.

Le texte qui suit rappelle les informations présentées dans l'expertise Inserm de 1999 pour chacun de ces effets et décrit les données nouvelles acquises depuis.

### Hémolyse

L'expertise collective réalisée par l'Inserm (1999) rapporte que l'EGBE et son acétate ont induit une hémolyse chez plusieurs espèces animales ; la souris, le rat, le lapin, le hamster, le babouin sont des espèces très sensibles à cet effet toxique alors que l'effet hémolysant est faible chez le chat, le chien, le cobaye, le porc et l'homme. L'hémolyse induite par l'EGBE et son acétate a été observée quelle que soit la voie d'administration. Chez le rat, les doses maximales sans effet (NOAEL : *no-observed adversed effect level*) par voies intraveineuse, orale et percutanée étaient respectivement de 62,5, 129 et 150 mg/kg. Pour cette espèce et probablement pour les autres, les animaux les plus âgés sont les plus sensibles à l'effet hémolysant. L'hémolyse induite par l'EGBE et son acétate est précédée par une sphérocytose, ce qui se traduit par une augmentation du volume globulaire moyen (VGM). Elle est associée à une déformation (stomatocytose) des hématies et à leur fragmen-

tation (schizocytose) ; elle produit des cellules fantômes (*ghost cells*), vidées de leur contenu. *In vivo*, quand elle est importante, elle peut s'accompagner d'une splénomégalie et d'une nécrose tubulaire rénale.

L'exposition répétée des animaux diminue leur sensibilité aux effets hémolytiques, probablement parce que les hématies les plus âgées sont les plus sensibles et qu'elles sont détruites dès les premières expositions, laissant la place à des cellules plus jeunes et plus résistantes.

Les données disponibles en 1999 (Inserm, 1999) montraient aussi que l'EGBE et son acétate n'étaient pas directement responsables de l'hémolyse observée. C'est leur principal métabolite, l'acide butoxyacétique (BAA), qui la provoque. La sensibilité des sujets âgés est augmentée du fait qu'ils éliminent moins bien le BAA. L'hémolyse induite par le BAA est précédée d'une déplétion en ATP des hématies, mais les données disponibles en 1999 ne permettaient pas d'expliquer précisément le mécanisme de l'hémolyse.

L'expertise collective de l'Inserm (1999) indiquait que des effets hémolytiques semblables à ceux décrits avec l'EGBE avaient également été observés expérimentalement avec le DEGBE, l'EGnPE, l'EGiPE et l'EGPhE. À doses égales, ces éthers de glycol avaient des effets moins marqués que ceux de l'EGBE sur les hématies. Le mécanisme de l'hémolyse était inconnu, dans tous les cas.

Les données cliniques et épidémiologiques analysées dans l'expertise collective Inserm (1999) confirmaient la faible sensibilité de l'espèce humaine aux effets hémolytiques de l'EGBE. Les quelques cas d'hémolyse intravasculaire qui avaient fait l'objet de publications avaient tous fait suite à l'ingestion accidentelle ou volontaire de plusieurs dizaines ou plusieurs centaines de millilitres du solvant.

En revanche, aucune toxicité hématologique significative n'avait été rapportée chez les travailleurs exposés. En comparant les hémogrammes de 31 travailleurs exposés à l'EGBE et de 21 témoins, une équipe belge (Haufroid et coll., 1997) avait observé une diminution discrète (3,3 %), mais statistiquement significative, de l'hématocrite chez les sujets exposés ; ces derniers présentaient aussi une augmentation minimale (2,1 %), mais également significative, du VGM.

Aucun effet hémolytique n'a été rapporté chez l'homme avec les autres éthers de glycol.

Des données nouvelles issues d'études expérimentales concernent l'EGBE, le DEGBE, l'EGiPE, l'EGPhE et le TEGDME ; quant aux données nouvelles en clinique et épidémiologie, elles concernent toutes l'EGBE.

## EGBE

Une dizaine d'études nouvelles ont précisé les effets hématotoxiques de l'EGBE. Dans une série d'expérimentations conduites chez le rat, deux équipes

(Nyska et coll., 1999a et b ; Ghanayem et coll., 2000 ; Long et coll., 2000 ; Udden, 2000 ; Ghanayem et coll., 2001 ; Ezov et coll., 2002 ; Koshkaryev et coll., 2003 ; Nyska et coll., 2003 ; Redlich et coll., 2004 ; Shabat et coll., 2004) ont étudié les effets hémolytiques et procoagulants de cet éther de glycol. Ces études sont résumées dans le tableau 2.I.

Les nouvelles données obtenues permettent de préciser l'histoire naturelle de l'hémolyse induite par l'EGBE : elle est précédée par une diminution de la plasticité des hématies, par leur gonflement (augmentation du VGM, sphérocytose) et leur déformation (stomatocytose). La fragmentation et la destruction des cellules circulantes produisent des schizocytes et des cellules fantômes (*ghost cells*) (Nyska et coll., 1999a et b ; Ghanayem et coll., 2000 ; Udden, 2000 ; Ghanayem et coll., 2001 ; Ezov et coll., 2002). Les complications de l'hémolyse induite par l'EGBE (Nyska et coll., 1999a et b ; Ghanayem et coll., 2000 ; Long et coll., 2000 ; Ghanayem et coll., 2001 ; Ezov et coll., 2002 ; Redlich et coll., 2004 ; Shabat et coll., 2004) sont celles rapportées dans toutes les maladies responsables d'hémolyse intravasculaire aiguë :

- coagulation intravasculaire disséminée, responsable de thrombi et d'infarctus dans de nombreux tissus et organes ;
- précipitation d'hémoglobine dans les tubules rénaux entraînant une nécrose tubulaire ;
- apparition de foyers d'hématopoïèse extra-médullaires et en particulier spléniques.

L'hémolyse induite par l'EGBE ne se distingue pas, dans ses manifestations et ses complications, de celle observée dans les hémoglobinopathies responsables d'accidents hémolytiques aigus (Udden 2000 ; Ghanayem et coll., 2001 ; Ezov et coll., 2002 ; Redlich et coll., 2004). En conséquence, les travaux publiés au cours des dernières années ont permis de faire de l'hémolyse induite par l'EGBE chez le rat un modèle d'étude des accidents hémolytiques aigus et subaigus. Les informations déjà obtenues, grâce à ce modèle, apportent un début d'explication aux effets procoagulants observés et indiquent un mécanisme multifactoriel : la diminution de la déformabilité des hématies et l'augmentation du volume globulaire y jouent un rôle certainement important (Udden, 2002), mais d'autres phénomènes sont impliqués tels que l'augmentation de l'adhésion à l'endothélium vasculaire résultant de la libération de médiateurs par les cellules endothéliales anoxiques, et la mise en circulation de facteurs d'agrégation par les plaquettes (Koshkaryev et coll., 2003 ; Nyska et coll., 2003).

Le responsable de l'hémolyse n'est pas l'EGBE lui-même, mais son métabolite le BAA. L'homme est une espèce très peu sensible aux effets hémolytiques du BAA, environ 100 fois moins que le rat dans l'étude *in vitro* de Udden (2002).

Chez le rat, les femelles sont plus sensibles que les mâles à l'hémolyse induite par l'administration d'EGBE (Nyska et coll., 1999b ; Ghanayem et coll.,

2000 ; Ghanayem et coll., 2001 ; Ezov et coll., 2002 ; Shabat et coll., 2004). Cette plus grande susceptibilité n'est pas due à une sensibilité accrue aux effets hémolysants du BAA. Elle résulte probablement de facteurs toxicocinétiques : d'une part, l'activité des aldéhyde déshydrogénases responsables de la production de BAA est plus élevée chez les femelles (Aasmoe et coll., 1998) et d'autre part, celles-ci éliminent plus lentement ce métabolite responsable des effets toxiques de l'EGBE (Dill et coll., 1998).

Le mode d'action du BAA n'est pas encore parfaitement élucidé, mais il est établi qu'il augmente l'entrée du sodium dans les hématies ; cette entrée n'est pas compensée par une sortie équivalente de potassium. Le mode d'action du BAA s'accompagne également d'une entrée d'eau et de calcium. Les mouvements liquidiens vont entraîner l'augmentation du volume globulaire et *in fine*, l'hémolyse. L'entrée de calcium pourrait avoir un rôle protecteur transitoire en activant la sortie de potassium (Udden, 2002 ; Udden et Patton, 2005).

Depuis 1999, seulement 4 publications ont rapporté des intoxications par l'EGBE. Aucune ne décrit d'effet hématotoxique.

L'observation de McKinney et coll. (2000) avait déjà fait l'objet d'un exposé dans un congrès et était présentée dans l'expertise collective Inserm (1999) : une femme de 51 ans a eu des troubles de conscience, des vomissements, une hypotension et une acidose métabolique hyperchlorémique après une prise de 24 à 72 g d'EGBE associé à de l'isopropanol. Aucune hémolyse n'a été observée. La malade a été traitée symptomatiquement et par l'administration d'éthanol. Elle a guéri sans séquelle.

L'observation de Gualideri et coll. (2003) avait également été présentée à un congrès avant 1999 et était commentée dans la précédente expertise (Inserm, 1999). Un homme de 18 ans a ingéré successivement à 10 jours d'intervalle 79 à 106 g, puis 106 g d'EGBE. Au cours du premier épisode, des troubles de conscience, une acidose métabolique, une élévation modérée de l'activité des transaminases et de la bilirubinémie libre (sans signe franc d'hémolyse) ont été observés ; un traitement par hémodialyse et administration d'éthanol a permis une guérison complète en 60 h. Après la deuxième ingestion d'EGBE, la prise en charge a été très précoce : l'hémodialyse et le traitement par éthanol ont prévenu la survenue de tout symptôme.

Osterhoudt (2002) a rapporté la survenue de troubles de conscience et d'une acidose métabolique rapidement corrigée par l'administration de fomépipzole chez une enfant de 16 mois, après la prise d'une dose inconnue d'EGBE associé à de l'éthanolamine et de la potasse. Aucune hémolyse et aucune brûlure chimique du tractus digestif n'ont été signalées bien que les substances associées à l'EGBE dans ce cas soient corrosives ou fortement irritantes.

Une équipe française a publié un cas de glomérulopathie avec mésangiolyse chez un homme de 53 ans professionnellement exposé à une préparation contenant de l'EGBE (Daniel et coll., 2004). Aucun argument chronologi-

que ou sémiologique en faveur d'un lien causal entre cette exposition et l'atteinte rénale n'est présenté par les auteurs.

Il n'y a pas eu, depuis 1999, d'étude épidémiologique publiée sur des effets de l'exposition à l'EGBE ou à d'autres éthers de glycol pour lesquels un effet hémolysant a été rapporté expérimentalement.

## DEGBE

L'administration orale de 3 564 mg/kg/j de DEGBE à des rats, 5 jours par semaine et pendant 6 semaines, a induit une altération de l'état général, une diminution de la prise de poids et une hémolyse (Boatman et Knaak, 2001).

Des rats F344 ont reçu 0, 1 000, 1 500 ou 2 000 mg/kg/j de DEGBE, pendant deux semaines dans leur eau de boisson, ou bien, selon le même protocole, 0, 50, 250 ou 1 000 mg/kg/j de cet éther de glycol (Johnson et coll., 2005). Dans les deux protocoles de cette étude, des diminutions modérées mais significatives du taux d'hémoglobine, du compte des hématies et de l'hématocrite ont été observées, à partir de 250 mg/kg/j pour les deux premiers paramètres, à partir de 1 000 mg/kg/j pour l'hématocrite.

Le DEGBE est principalement métabolisé en acide butoxyéthoxyacétique (BEAA). Une étude récente a évalué, *in vitro*, la toxicité du DEGBE et du BEAA pour les hématies de rat (Udden, 2005). Ces dernières ont été incubées pendant 4 h avec des solutions de 0,5 ou 10 mM de l'une ou l'autre de ces deux substances. Aucun effet n'a été observé avec le DEGBE, mais le BEAA a induit une augmentation du VGM, une sphérocytose, une diminution de la déformabilité des hématies et une hémolyse (modérée), dépendantes de la dose. Dans les mêmes conditions, aucun effet n'a été observé pour des hématies humaines. Au total, les effets hématotoxiques du DEGBE sont semblables à ceux de l'EGBE, mais ils sont moins marqués. Le DEGBE n'est pas directement responsable de ces effets : son principal métabolite, le BEAA, peut au moins partiellement les expliquer. Il ne peut être exclu que le métabolisme du DEGBE entraîne aussi la formation de BAA, mais dans un tel cas les quantités produites seraient très faibles. Le pouvoir hémolysant du BEAA sur les hématies humaines est certainement très faible, si tant est qu'il soit décelable.

## EGiPE et EGPhE

L'injection sous-cutanée d'EGiPE (0, 0,625, 1,25 ou 2,5 mmol/kg) ou d'EGPhE (0, 2,5, 5 ou 10 mmol/kg) a induit une augmentation du VGM et une hémolyse dépendantes de la dose chez le rat (Starek et coll., 2004). Dans cette étude, l'effet hémolysant de l'EGiPE était environ 10 fois plus important que celui de l'EGPhE.

## TEGDME

Des rats ont reçu des doses de 0, 62,5, 250 ou 1 000 mg/kg/j de TEGDME dans leur alimentation pendant 28 jours (Hoechst, 1992). Il n'a pas été observé de diminution du compte des hématies ou d'augmentation de la bilirubinémie.

## Toxicité pour la moelle osseuse

L'expertise collective de l'Inserm (1999) rapportait que les dérivés alkylés à chaîne courte, en particulier les dérivés méthylés, de l'éthylène glycol et du diéthylène glycol induisaient expérimentalement une hypoplasie médullaire, avec diminution des progéniteurs, principalement de ceux des granulocytes et de la lignée rouge, responsable de cytopénies périphériques (leucopénie, neutropénie, anémie). En pratique, un effet dépresseur médullaire a été observé avec l'EGME, l'EGEE, l'EGnPE, le DEGME (et/ou leurs acétates) et avec le DEGDME, dans toutes les espèces où il a été recherché. C'est un effet dépendant de la dose, d'autant plus marqué que la chaîne alkylée est plus courte (EGME > EGEE > EGNPE). Ces effets hématotoxiques sont probablement médiés par les alcoxyacétaldéhydes et les acides alcoxyacétiques correspondants. Ils pourraient résulter d'une inhibition de la synthèse des bases puriques et pyrimidiques et en conséquence, de celle des acides nucléiques, ou de l'induction d'anomalies du fuseau mitotique, ou encore de la formation de ponts intercaténaire dans l'ADN.

D'assez nombreux cas de cytopénies sanguines d'origine centrale ont été rapportés chez des travailleurs exposés à l'EGME, l'EGEE ou leurs acétates, avant 1999 (Inserm, 1999). De même, l'expertise de 1999 rapportait les résultats de plusieurs études transversales qui montraient une prévalence élevée de cytopénies et/ou des comptes significativement diminués des éléments figurés du sang chez des travailleurs exposés à l'EGME, l'EGEE ou leurs acétates, comparés à des témoins.

Des données nouvelles d'études expérimentales sont présentées pour l'EGME, le DEGDME et le TEGDME et des résultats d'études cliniques et épidémiologiques pour l'EGME et l'EGEE.

## EGME

Takagi et coll. (2002) ont incubé des cellules médullaires humaines et des cellules issues d'une lignée de leucémie humaine (HL60) avec de l'EGME ou l'un de ses deux principaux métabolites, le méthoxyacétaldéhyde (MALD) ou l'acide méthoxyacétique (MAA). Aucun effet cytotoxique n'a été observé avec l'EGME ( $\leq 10$  mM). Les concentrations de MALD et de MAA

entraînant une inhibition de 50 % (IC 50) de la formation des colonies étaient respectivement de 3 et 3,9 mM pour les cellules médullaires, et de 2,45 et 5,6 mM pour les cellules HL60. La formation d'échelles d'ADN caractéristique de l'apoptose a été observée dans les cellules HL60 traitées par le MALD. De même, l'incubation dans le MALD induisait l'activité de la capsase-3, enzyme impliquée dans le processus apoptotique. Cette étude confirme que ce sont le MAA et/ou le MALD, plutôt que l'EGME, qui sont responsables des effets hématotoxiques de ce dernier. Elle apporte plusieurs arguments en faveur d'un mécanisme apoptotique de l'atteinte médullaire.

Deux études épidémiologiques conduites en Asie du Sud-Est ont confirmé la toxicité hématologique de l'EGME. Elles sont rapportées ci-dessous et résumées dans le tableau 2.II.

Une étude a été conduite à Taiwan dans une usine de fabrication de stratifiés plaqués cuivre. Quarante sept hommes et 6 femmes directement exposés à l'EGME ont été comparés à 93 hommes et 28 femmes indirectement exposés (Shih et coll., 2000). Au niveau des postes de travail (individus directement exposés), la concentration atmosphérique moyenne d'EGME était de 3,98 ppm alors qu'elle était de 0,28 ppm pour les individus indirectement exposés. Quant à la concentration urinaire d'acide méthoxyacétique, elle était respectivement de 19,95 mg/g de créatinine et inférieure à 1,26 mg/g de créatinine pour les individus directement exposés et ceux qu'ils l'étaient indirectement. Une diminution du taux d'hémoglobine, de l'hématocrite et du compte des hématies a été observée chez les hommes ; ces trois paramètres étaient corrélés négativement à la mesure de MAA ( $p < 0,001$ ) ainsi qu'à la concentration atmosphérique d'EGME au poste de travail pour le dernier ( $p = 0,004$ ). La fréquence de l'anémie (hémoglobine  $< 13,5$  g/dl) était de 26,1 % chez les hommes exposés et 3,2 % chez les non-exposés ( $p < 0,0001$ ) ; de même, les valeurs anormalement basses de l'hématocrite ( $< 40$  %) et du compte des hématies ( $< 4\,500\,000/\mu\text{l}$ ) étaient plus fréquentes chez les hommes exposés ( $p < 0,0001$ ) que chez les non-exposés. Aucun effet de l'exposition n'a été observé sur les autres lignées sanguines. Aucun effet significatif n'a été constaté chez les femmes exposées, mais compte tenu du faible nombre d'individus concernés, ce résultat est difficilement interprétable.

Dans la même entreprise que précédemment, une politique de réduction des expositions à l'EGME a été mise en place en parallèle à un suivi des paramètres hématologiques (Shih et coll., 2003). Trois campagnes de mesure ont eu lieu successivement en février, avril et août 1997. Les concentrations moyennes d'EGME dans l'air étaient respectivement de 9,62 ppm, 2,34 ppm et 0,34 ppm et les concentrations urinaires de MAA étaient de 51 mg/g de créatinine, 20 mg/g puis 7 mg/g chez 29 employés (24 hommes, 5 femmes) directement exposés. Un groupe de 90 employés (67 hommes, 23 femmes) indirectement exposés a été constitué. Les niveaux d'exposition de base étaient de 0,08 ppm d'EGME dans l'atmosphère et de 0,53 mg/g de créatinine pour la concentration urinaire de MAA. Les associations trouvées lors

de l'examen initial sont semblables à celles rapportées dans l'étude précédente (Shih et coll., 2000). Les paramètres hématologiques sont revenus à la normale en avril (2,5 mois plus tard) après une réduction des expositions et étaient stables à l'évaluation suivante, en août. Sous réserve que la réduction des expositions ait porté essentiellement sur l'EGME, cette étude apporte une preuve supplémentaire des effets hématotoxiques potentiels de l'EGME.

### **DEGDME**

Des groupes de 20 rats mâles et 10 rats femelles ont été exposés, par le museau seulement, à des concentrations atmosphériques de 0, 110, 370 ou 1 100 ppm de DEGDME, ou à une concentration de 300 ppm d'EGME (témoin positif), 6 h par jour, 5 jours par semaine et pendant deux semaines (Valentine et coll., 1999). Une anémie (diminution du compte des hématies, du taux d'hémoglobine et de l'hématocrite) et une leucopénie (due à une lymphopénie, une monocytopenie et une neutropénie) ont été observées chez les mâles et les femelles traités par 1 100 ppm de DEGDME ou 300 ppm d'EGME. Une thrombopénie a été constatée dans les mêmes groupes et chez les mâles traités par 370 ppm de DEGDME. Tous ces troubles ont été régressifs à l'arrêt de l'exposition. Ces anomalies périphériques s'accompagnaient d'une atteinte de la moelle osseuse qui était hypoplasique et d'une atrophie des tissus lymphoïdes splénique et thymique chez les animaux traités par 1 100 ppm de DEGDME ou 300 ppm d'EGME. Ces signes de toxicité hématologique étaient associés, chez les mâles, à des lésions des testicules, des vésicules séminales, de l'épididyme et de la prostate ; une atteinte testiculaire était décelable dès 110 ppm.

### **TEGDME**

Des rats ont reçu des doses de 0, 62,5, 250 ou 1 000 mg/kg/j de TEGDME dans leur alimentation pendant 28 jours (Hoechst, 1992). À la plus forte dose, une diminution du compte des plaquettes a été observée chez les deux sexes et une diminution de celui des leucocytes s'est produite chez les mâles seulement.

### **EGEE**

Des données de nature épidémiologique, provenant d'études conduites en Asie du Sud-Est, sont rapportées ci-dessous et résumées dans le tableau 2.II.

Dans une entreprise fabriquant des semi-conducteurs à Taïwan, une évaluation globale de l'état de santé des 926 employés a été conduite en 1995. Cent quatre vingt employés de fabrication (96 hommes, 84 femmes) sur les



208 présents et 47 tirés au sort (18 hommes, 29 femmes) parmi les 718 employés hors-fabrication ont été inclus dans une évaluation des paramètres sanguins hématologiques, hépatiques et rénaux (Luo et coll., 2002). Une diminution significative du compte des leucocytes a été observée chez les hommes travaillant dans les secteurs de la photolithographie ( $p = 0,003$ ) et de l'implantation ( $p = 0,018$ ), comparés aux sujets non exposés ; de même, la prévalence de la leucopénie était augmentée dans le secteur de la photolithographie. Aucun autre paramètre hématologique n'était altéré. Aucune information n'est donnée sur les niveaux d'exposition aux éthers de glycol ni collectivement ni individuellement. Des éthers de glycol hématotoxiques sont, ou ont été utilisés dans les secteurs impliqués ici, en particulier l'EGEE et l'EGEEA, mais aussi d'autres agents potentiellement hématotoxiques, tels que l'arsenic ou des sources de rayonnements ionisants.

Les 29 employés (17 hommes et 12 femmes) directement exposés à l'EGEEA dans l'atelier d'impression d'une entreprise de sérigraphie taïwanaise ont été comparés à une population de témoins indirectement exposés, constituée des 56 autres salariés (29 hommes et 27 femmes) de l'entreprise (Loh et coll., 2003). L'EGEEA était le solvant de nettoyage employé dans l'atelier qui en consommait environ 1 000 kg par mois. Les concentrations atmosphériques moyennes d'EGEEA étaient respectivement de 4,87 ppm, 9,34 ppm et 0,07 ppm, pour les hommes de l'atelier d'impression, les femmes du même atelier et les témoins. Le taux d'hémoglobine et l'hématocrite des femmes exposées étaient significativement plus faibles que ceux des femmes du groupe témoin. Aucune différence significative n'a été observée pour ces paramètres, chez les hommes, entre les groupes témoin et exposé. Il n'a pas été noté de différence entre témoins et exposés pour les comptes des hématies, des leucocytes et des plaquettes. La corrélation entre divers paramètres de l'héмограмme et l'exposition individuelle à l'EGEEA a été étudiée chez 36 salariés dont les auteurs n'indiquent pas comment ils ont été sélectionnés. Le taux d'hémoglobine, l'hématocrite et le compte des hématies (mais pas ceux des leucocytes et des plaquettes) étaient corrélés négativement à la concentration atmosphérique d'EGEEA après ajustement sur le sexe, l'indice de masse corporelle et le niveau d'études.

Trente deux femmes, employées de deux entreprises chinoises fabriquant des plaques photosensibles et exposées à l'EGEE qu'elles utilisaient comme diluant de peintures, ont été comparées à 20 témoins appariés sur le sexe, l'âge, le tabagisme et la consommation d'alcool (Wang et coll., 2004). La concentration atmosphérique d'EGEE était en moyenne de 6,44 ppm pour le groupe exposé et de 0,56 ppm pour le groupe témoin. Les concentrations urinaires moyennes d'acide éthoxyacétique (EAA) étaient respectivement de 120,87 et 2,21 mg/g de créatinine dans le groupe exposé et le groupe témoin. Aucune différence des taux d'hémoglobine, des comptes des hématies ou de ceux des leucocytes n'a été constatée entre les deux groupes. Deux femmes du groupe exposé avaient une anémie, caractérisée par un compte des héma-

ties et un taux d'hémoglobine inférieurs à la limite des valeurs considérées comme normales.

## **Toxicité pour les organes lymphoïdes et immunotoxicité**

L'expertise collective de l'Inserm (1999) rapportait des effets lymphopéniant et/ou immunotoxique de plusieurs éthers de glycol, dérivés alkylés à chaînes courtes de l'éthylène glycol et du diéthylène glycol (EGME, EGEE, DEGME et leurs acétates). L'atteinte des organes lymphoïdes a été décrite chez plusieurs espèces animales ; elle est dépendante de la dose. L'atrophie thymique s'exerce principalement aux dépens des lymphocytes T du cortex, tandis que l'atteinte splénique se traduit principalement par une diminution des lymphocytes CD4+. Sur le plan fonctionnel, une diminution de la production d'anticorps en réponse à des stimuli antigéniques a été observée, de même qu'une diminution des réponses mitogènes et de la production d'interleukine-2 dans les splénocytes. Aucun déficit de la fonction NK n'est décelable. Il est établi que les effets immunosuppresseurs des éthers de glycol sont médiés par les acides alcoxyacétiques correspondants.

Quelques cas de lymphopénie chez des travailleurs exposés à des éthers de glycol ont été rapportés avant 1999 (Inserm, 1999). En 1986, Denkhaus et coll. avaient observé une diminution des lymphocytes CD4 et CD11, sans modification des lymphocytes CD8 et avec une augmentation des cellules NK, chez des parqueteurs exposés à divers solvants dont l'EGME, l'EGEE et l'EGBE.

Des données nouvelles issues d'études expérimentales ont été recensées pour l'EGME, l'EGBE, l'EGPhE, le DEGME et le TEGDME. Depuis l'expertise de 1999, il n'y a pas eu de publication rapportant des observations de cas cliniques ou une étude épidémiologique sur les effets immunotoxiques des éthers de glycol.

### **EGME**

Ju et coll. (1998) ont évalué l'immunotoxicité de l'EGME et de ses deux principaux métabolites, le méthoxyacétaldéhyde (MALD) et l'acide méthoxyacétique (MAA), dans des cultures de cellules sanguines mononucléaires périphériques humaines. Les concentrations testées étaient : 0, 10, 20, 30, 40 et 50 mM pour l'EGME ; 0, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 et 0,5 mM pour le MALD ; 0, 0,4, 1, 2 et 5 mM pour le MAA. Une diminution dose-dépendante de la production d'IgM par les cellules en culture a été observée avec les trois substances. C'est avec le MALD que cet effet était le plus marqué (MALD > MAA >> EGME). Les trois substances ont également diminué la réponse lymphoproliférative induite par la concanavaleine A ; cet effet était

dépendant de la dose et plus marqué avec le MALD et le MAA qu'avec l'EGME (MALD > MAA >> EGME). Le MALD et le MAA avaient des effets cytotoxiques (diminution de la viabilité des cultures) : aux deux plus fortes concentrations pour le MALD, à la plus forte pour le MAA. Cet effet n'a pas été observé avec l'EGME. Les trois substances provoquaient une fragmentation de l'ADN caractéristique d'un phénomène apoptotique ; cet effet s'aggravait avec l'augmentation du temps d'incubation et il était plus précoce avec le MALD et le MAA qu'avec l'EGME. De même, le traitement avec l'une ou l'autre des trois substances entraînait une augmentation de la concentration intracellulaire de calcium, ce qui est également en faveur d'un mécanisme apoptotique des effets immunotoxiques et cytotoxiques ; de nouveau, c'est avec le MALD que ce phénomène était le plus marqué.

## EGBE

Une équipe américaine a étudié *in vivo* l'immunotoxicité de l'application cutanée d'EGBE chez la souris. Dans une première série d'expérimentations (Singh et coll., 2001), des souris BALB/c ont reçu des applications cutanées de 100, 500, 1 000 ou 1 500 mg/kg/j d'EGBE pendant 4 jours. Des effets immunotoxiques étaient recherchés 24 h après la dernière dose. Aucune modification de la taille ou de la cellularité du thymus n'a été notée. Une augmentation du poids et de la cellularité de la rate à la plus forte dose était observée, ce qui résultait probablement de l'effet hémolyse de l'EGBE. Les réponses lymphoprolifératives des cellules spléniques à la concanavaleine A et à un antigène allogène étaient diminuées après le traitement par les trois plus fortes doses d'EGBE, mais dans les deux cas, cette diminution n'était significative qu'aux deux doses intermédiaires. Aucune modification de la prolifération des lymphocytes B spléniques n'a été induite par les liposaccharides, ni de la production d'anticorps induite par l'addition aux splénocytes en culture d'hématies de mouton. Il n'a pas été observé de modification des activités cytotoxiques des cellules NK ou des lymphocytes T spléniques. Les auteurs concluent que dans cette série d'expérimentations, l'EGBE est sans effet sur l'immunité dépendante des lymphocytes B, mais qu'il a un effet suppresseur de certains aspects de l'immunité dépendante des cellules T. Cependant, l'absence de relation dose-effet nette dans les deux essais dont les résultats sont positifs incite à une interprétation prudente des résultats obtenus.

Dans une deuxième série d'essais, la même équipe a recherché un effet modulateur de l'EGBE sur la sensibilisation et la réponse allergique de contact (Singh et coll., 2002). Des souris BALB/c ont été sensibilisées à l'oxazolone. L'EGBE était administré par voie orale ou appliqué localement : les doses administrées oralement étaient de 0, 50, 150 ou 400 mg/kg/j pendant 10 jours, la sensibilisation à l'oxazolone étant réalisée le 5<sup>e</sup> ou le 10<sup>e</sup> jour du traitement ; le traitement topique utilisait des doses de 0, 0,25, 1, 4 ou 16 mg appliquées sur la peau, sur le même site que l'oxazolone et immédiatement

après cette dernière au moment de la sensibilisation, ou encore 0, 1, 3, 6 ou 10 h après au moment du déclenchement de la réponse allergique. L'administration orale d'EGBE n'a pas modifié la sensibilisation et la réponse à l'allergène. L'application locale de 4 mg de l'éther de glycol au moment de la sensibilisation, du déclenchement de la réponse ou des deux, a été suivie d'une diminution de la réponse locale à l'allergène d'environ 20 % dans tous les cas. Aucun effet n'a été observé au moment du déclenchement de la réponse quand la même dose était appliquée 1 h ou plus après l'oxazolone. De même, le traitement local par l'EGBE n'a pas modifié la réponse à l'allergène aux autres doses (y compris à plus forte dose), quel que soit le protocole employé. L'application locale d'acide butoxyacétique (BAA : 2, 4 ou 8 mg) au lieu d'EGBE était sans effet. Le prétraitement des animaux par le 4-méthylpyrazole (inhibiteur de l'alcool déshydrogénase qui catalyse la transformation de l'EGBE en BALD) a augmenté l'inhibition de la réponse observée après application locale de 4 mg d'EGBE. Les auteurs concluent à un effet immunosuppresseur de l'application locale d'EGBE qui serait imputable au produit inchangé plutôt qu'à ses métabolites. Leurs résultats doivent cependant être interprétés avec prudence, en raison de l'absence de relation dose-effet. L'incubation de cellules épidermiques de souris dans des solutions aqueuses d'EGBE ( $10^{-12}$ ,  $10^{-10}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-4}$  M) n'a pas modifié l'expression des antigènes de surface de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité ou la synthèse protéique dans les cellules de Langerhans (Singh et coll., 2002).

### **EGPhE**

Une équipe espagnole a étudié les effets immunomodulateurs de l'EGPhE chez la daurade. L'ajout d'EGPhE à l'eau de l'aquarium (1,6 mM) a induit une narcose, une diminution de l'activité du complément et de l'activité phagocytaire des leucocytes chez les animaux traités (Ortuno et coll., 2002a). L'ajout de benzocaïne dans l'aquarium a les mêmes effets. Des daurades placées dans un aquarium surpeuplé ou non ont été traitées par ajout d'EGPhE dans l'aquarium à concentration sédative (60 µl/l) ou narcotique (120 µl/l). Le surpeuplement a augmenté la glycémie et la cortisolémie des animaux, ce qui est un signe de stress ; il a diminué l'activité du complément et l'activité phagocytaire des leucocytes (Ortuno et coll., 2002b ; Ortuno et coll., 2002c). Le traitement par l'EGPhE a eu des effets semblables. Les effets immunodépresseurs du traitement par l'éther de glycol ne semblent donc pas traduire un effet spécifique, mais plutôt le stress de l'anesthésie.

### **DEGDME**

Dans une étude déjà citée (Valentine et coll., 1999), des groupes de 20 rats mâles et 10 rats femelles ont été exposés, par le museau seulement, à des concentrations atmosphériques de 0, 110, 370 ou 1 100 ppm de DEGDME,

ou à une concentration de 300 ppm d'EGME (témoin positif), 6 h par jour, 5 jours par semaine et pendant deux semaines. Une lymphopénie a été observée chez les mâles et les femelles traités par 1 100 ppm de DEGDME ou 300 ppm d'EGME. Cette anomalie périphérique s'accompagnait d'une atrophie des tissus lymphoïdes splénique et thymique.

## TEGDME

Des rats ont reçu des doses de 0, 62,5, 250 ou 1 000 mg/kg/j de TEGDME dans leur alimentation pendant 28 jours. À la plus forte dose, une diminution du compte des leucocytes a été observée chez les mâles ; le poids du thymus était diminué et histologiquement, des signes d'atrophie liés au traitement y ont été observés (Hoechst, 1992).

**En conclusion**, les données publiées depuis 1999 ne modifient pas fondamentalement notre connaissance des effets hématotoxiques des éthers de glycol. Elles apportent quelques informations complémentaires utiles.

Ces données confirment le caractère hémolysant de l'EGBE chez le rat et précisent l'histoire naturelle des accidents hémolytiques : ils sont précédés par une diminution de la plasticité des hématies, leur déformation (sphérocytose, stomatocytose) et une augmentation du volume globulaire. Quand l'hémolyse est importante, elle se complique d'une coagulation intravasculaire responsable de thromboses et d'infarctus disséminés, de précipitation d'hémoglobine dans les tubules rénaux entraînant une nécrose tubulaire et de l'apparition de foyers d'hématopoïèse extra-médullaires. L'hémolyse induite par l'EGBE chez le rat n'a, en fait, aucun caractère spécifique et des phénomènes exactement semblables sont observés au cours de toutes les maladies hémolysantes, dont elle constitue un bon modèle animal. L'utilisation de ce modèle a déjà permis une meilleure compréhension des effets procoagulants des accidents hémolytiques. Par ailleurs, les publications récentes confirment que c'est le BAA, principal métabolite de l'EGBE, qui est responsable de l'hémolyse. Les hématies humaines sont très résistantes aux effets hémolysants du BAA. Chez le rat, les femelles sont plus sensibles que les mâles aux effets de l'EGBE, mais cette particularité ne traduit pas une plus grande fragilité de leurs hématies : elle résulte de différences toxicocinétiques entre les deux sexes. Le mécanisme des effets de l'EGBE sur les hématies n'est pas encore parfaitement élucidé, mais le *primum movens* semble une entrée accrue de sodium et d'eau.

Des données récemment publiées confirment aussi la capacité de l'EGiPE, de l'EGPhE et du DEGBE d'induire une hémolyse. Le pouvoir hémolysant de ces trois substances est toutefois moins marqué que celui de l'EGBE, et celui de l'EGiPE est beaucoup plus important que ceux de l'EGPhE et du DEGBE. Une étude *in vitro* a montré que l'hémolyse induite par ce dernier

était probablement due à son principal métabolite, l'acide butoxyéthoxyacétique (BEAA). Les hématies humaines sont très peu sensibles à l'effet hémolyse du BEAA.

De nouvelles études épidémiologiques ont confirmé l'effet hypoplasiant médullaire de l'EGME, l'EGEE et l'EGEEA, en montrant un excès de risque de cytopénies périphériques corrélé à l'exposition chez les travailleurs de divers secteurs d'activité. Une étude expérimentale établit l'hématotoxicité du TEGDME chez le rat : chez cette espèce, l'administration répétée de fortes doses de l'éther de glycol a induit des diminutions des comptes des plaquettes et des leucocytes, ainsi qu'une atteinte thymique. Une autre étude récente conduite chez le rat confirme l'effet hypoplasiant du DEGDMÉ au niveau de la moelle osseuse et établit sa toxicité pour les organes lymphoïdes.

Deux études expérimentales ont confirmé que la toxicité de l'EGME pour la moelle osseuse et pour les organes lymphoïdes était médiée par ses deux principaux métabolites, l'acide méthoxyacétique (MAA) et surtout, le méthoxyacétaldéhyde (MALD) ; elles ont apporté des arguments en faveur d'un mécanisme apoptotique de l'atteinte des cellules souches.

Tableau 2.1 : Effets hémolyants et procoagulant de l'EGBE (données expérimentales)

Références	Modèle expérimental	Protocole administration EGBE	Résultats	Commentaires
Nyska et coll., 1999a	Rats F344/N 10 M et 10 F par groupe	0, 31, 62,5, 125, 250 ou 500 ppm 6 h/j x 5 j/sem x 13 sem	À 500 ppm, 4 rats (F) moribonds sacrifiés à J4 : thromboses disséminées et nécroses osseuses ischémiques Pas de thrombose chez les rats (F) à 500 ppm, sacrifiés ultérieurement, mais signes d'infarctus ischémique ancien au niveau des vertèbres coccygiennes Pas de thrombose ou de signe d'infarctus chez les rats (M) à 500 ppm et chez les deux sexes aux doses inférieures Thrombi et infarctus dans de nombreux organes Thrombi et hémorragies de la rétine et des corps ciliaires	Sphérocytose (augmentation VGM, diminution déformabilité des hématies) et hémolyse probablement à l'origine des thromboses Thrombi : responsables des infarctus osseux Femelles plus sensibles que les mâles aux effets procoagulants de l'EGBE, parce qu'elles sont également plus sensibles aux effets hémolytants dont ils sont la conséquence
Nyska et coll., 1999b	Rats F344 8 F par groupe	0 ou 250 mg/kg/j x 3 j, par gavage Sacrifices, 24 h après dernière dose		
Long et coll., 2000	Rats F344/N 10 F par groupe	0, 31, 62,5, 125, 250 ou 500 ppm 6 h/j x 5 j/sem x 13 sem	Anémie normochrome, macrocytaire, dose-dépendante chez tous les animaux traités À 500 ppm, 4 rates moribondes sacrifiées à J4 : thromboses multifocales de la pulpe des dents, infarctus pulpaire et nécrose des odontoblastes chez 3 d'entre elles Pas de thrombi chez les rates exposées à 500 ppm, mais sacrifiées à la 13 <sup>e</sup> semaine Pas d'anomalie dentaire aux doses inférieures	L'absence de lésion chez les animaux sacrifiés à la 13 <sup>e</sup> semaine, y compris chez ceux exposés à 500 ppm traduit probablement une tolérance aux effets hémolytants de l'EGBE

Tableau 2.1 (suite)

Références	Modèle expérimental	Protocole administration EGBE	Résultats	Commentaires
Ghanayem et coll., 2000	Rats F344/N F et M ; 3 à 10 animaux par groupe	0 ou 250 mg/kg, par gavage Prélèvement sanguin à 4 h, 8 h ou 24 h	Chez les mâles : augmentation de l'hématocrite et du VGM à 4 h Chez les femelles : augmentation du VGM, mais diminution de l'hématocrite à 4 h Chez les deux sexes : sphérocytose et hémolyse ; diminutions de l'hématocrite, du taux d'hémoglobine et du compte des hématies après 4 h, plus marqués chez les M que chez les F ; agrégation des hématies (plus fréquente chez les F que chez les M) <i>In vitro</i> : hématies des F pas plus sensibles que hématies des M à l'effet hémolysant du BAA	Effet hémolysant plus marqué (plus précoce et plus intense) chez les femelles que chez les mâles Cette plus grande sensibilité des femelles ne traduit pas une fragilité plus importante de leurs hématies
Udden, 2000	Rats F344 M, 5 animaux par groupe traité ; 10 témoins	0, 125 ou 250 mg/kg, par gavage Prélèvements sanguins à 0,5 h, 2 h et 4 h	Stomatocytose, sphérocytose et augmentation de l'hématocrite dose-dépendantes	Confirmation des effets hématologiques précédant l'hémolyse, de la responsabilité du BAA et de la faible sensibilité des hématies humaines aux effets toxiques de ce métabolite
	Hématies de rat et hématies humaines, <i>in vitro</i>	Incubation dans BAA (1 ou 2 mM)	Stomatocytose, sphérocytose et hémolyse avec les hématies de rat Aucun effet sur hématies humaines	



Tableau 2.1 (suite)

Références	Modèle expérimental	Protocole administration EGBE	Résultats	Commentaires
Ghanayem et coll., 2001	Rats F344/N F et M ; 5 à 8 animaux par groupe 10 à 12 témoins	0 ou 250 mg/kg/j, par gavage, pendant 1 à 3 j Prélèvement sanguin à 4 h, 8 h ou 24 h Sacrificés 24 ou 48 h après la dernière dose	Anémie macrocytaire, hypochrome et régénérative s'aggravant quand la durée du traitement augmente Stomatocytose, sphérocytose, macrocytose, formation de rouleaux d'hématies, d'intensités également dépendantes de la dose Effets plus précoces et plus marqués chez les F Hémolyse compliquée d'une coagulation intravasculaire disséminée avec des thrombi dans les poumons, la sous-muqueuse nasale, les yeux, le foie, le cœur, les os et les dents et avec des infarctus cardiaques, oculaires, dentaires et osseux, de dépôts d'hémoglobine dans les tubules rénaux et de foyers d'hématopoïèse spléniques Hémolyse et macrocytose dose-dépendantes, maximales à 24 h	
Starek et coll., 2002	Rats CRL Sexe non précisé 5 par groupe	0, 1,25, 2,5 ou 5 mmol/kg, par voie sous-cutanée Prélèvements sanguins à 0 h, 3 h, 6 h, 24 h, 48 h, 144 h (+ 96 h et 600 h à 2,5 mmol/kg)		
Udden, 2002	Hématies de rat, <i>in vitro</i> ; Hématies humaines, <i>in vitro</i>	BAA : 0 ; 0,025 ; 0,050 ; 0,075 ; 0,100 mM BAA : 0 ; 2,5 ; 5,0 ; 7,5 ; 10 mM	Diminution de la déformabilité des hématies, augmentation du VGM, de la concentration intra-érythrocytaire de sodium et de la fragilité osmoïque, à partir de 2,5 mM pour les hématies humaines, de 0,025 mM pour celles de rat Pas d'hémolyse, mais augmentation modérée du VGM, après incubation d'hématies humaines avec 10 mM de BAA	Confirmation de la très faible sensibilité des hématies humaines à l'effet hémolysant. Pas d'effet notable à 10 mM Accumulation intra-érythrocytaire de sodium en faveur d'un effet du BAA sur les échanges ioniques transmembranaires

Tableau 2.1 (suite)

Références	Modèle expérimental	Protocole administration EGBE	Résultats	Commentaires
Ezov et coll., 2002	Rats F344 4 F et 4 M par groupe	0 ou 250 mg/kg/j, par gavage, pendant 2 à 4 j Sacrifices 2 h après la dernière dose, sauf 1 groupe traité 4 j et un groupe témoin, sacrifiés à J29	Anémie hémolytique dans tous les groupes, d'autant plus marquée que le traitement est plus long Hémolyse plus précoce et plus marquée chez les femelles Hémolyse accompagnée de : stomatocytose, sphérocytose, macrocytose, schizocytose, anisochromie, réticulocytose ; thromboses et infarctus ischémiques diffus (vertèbres, fémurs, cœur, cerveau, foie, poumons, yeux, sous-muqueuse nasale) ; nécrose tubulaire rénale ; foyers d'hématopoïèse spléniques	Lésions histologiques semblables à celles observées dans maladies hémolysantes (drépanocytose, thalassémie...) EGBE chez le rat : modèle animal intéressant pour l'étude de ces maladies
Koshkaryev et coll., 2003	Rats F344 4 F et 4 M par groupe	0 ou 250 mg/kg/j, par gavage, pendant 2 à 4 j Prélèvement sanguin et sacrifice 2 h après la dernière dose, sauf 1 groupe traité 4 j et un groupe témoin, sacrifiés à J29	Pas de modification de l'agrégabilité des hématies, mais augmentation de leurs adhérences aux matrices extra-cellulaires et aux cellules endothéliales	L'adhésion des hématies aux cellules endothéliales est probablement l'un des facteurs à l'origine des thrombi et des infarctus produits par l'intoxication par l'EGBE
Nyska et coll., 2003	Rats F344 4 F par groupe	0 ou 250 mg/kg/j, par gavage, pendant 2 à 4 j Prélèvement sanguin et sacrifice 2 h après la dernière dose Étude de l'expression, <i>in situ</i> , au niveau de l'œil, de la VCAM-1, l'ICAM-1 et la P-sélectine	Expression de la <i>vascular cell adhesion molecule-1</i> (VCAM-1) corrélée à la formation de thrombi, au niveau de l'iris, des corps ciliaires et de la rétine seulement après 3 ou 4 doses Pas d'effet sur l' <i>endothelial intercellular adhesion molecule-1</i> (ICAM-1) et la P-sélectine	La VCAM-1 intervient probablement dans les thromboses induites par l'EGBE en promouvant l'adhésion des hématies à l'endothélium vasculaire

Tableau 2.1 (suite)

Références	Modèle expérimental	Protocole administration EGBE	Résultats	Commentaires
Redlich et coll., 2004	Rats F344 4 F et 4 M par groupe	0 ou 250 mg/kg/j, par gavage, pendant 2 à 4 j Prélèvement sanguin et sacrifice 2 h après la dernière dose, sauf 1 groupe traité 4 j et un groupe témoin, sacrifiés à J29	Thrombi et infarctus de la pulpe des dents ; nécrose des odontoblastes Lésion prédominante dans les incisives Foyers de nécrose des myocytes dans la langue Guérison des lésions dentaires et linguales à l'arrêt de l'exposition	Les lésions décrites sont semblables à celles observées en cas de drépanocytose ou de bêta-thalassémie
Shabat et coll., 2004	Rats F344 4 F et 4 M par groupe	0 ou 250 mg/kg/j, par gavage, pendant 2 à 4 j Prélèvement sanguin et sacrifice 2 h après la dernière dose, sauf 1 groupe traité 4 j et un groupe témoin, sacrifiés à J29	Thromboses et infarctus médullaires au niveau des diaphyses fémorales et des vertèbres coccygiennes Lésions plus marquées chez les F que chez les M, à doses égales	
Udden et Patton, 2005	Hématies de rats F344, <i>in vitro</i>	Incubation avec BAA : 0, 0,5, 1 ou 2 mM et un tampon contenant glucose, NaCl, KCl, CaCl <sub>2</sub>	BAA entraîne augmentation VGM et hémolyse Effet protecteur de l'addition de saccharose au milieu et du remplacement du sodium par du potassium dans le milieu Effet aggravant de la déplétion du milieu en calcium Incubation des hématies dans BAA augmente la pénétration intracellulaire de calcium	L'augmentation du VGM et l'hémolyse pourraient résulter d'une entrée de sodium et d'eau dans les hématies. L'entrée simultanée de calcium aurait au moins transitoirement, un effet protecteur

M : mâle ; F : femelle ; BAA : acide butoxyacétique ; VGM : volume globulaire moyen.

Tableau 2.II : Études épidémiologiques des effets hématotoxiques des éthers de glycol (bilan depuis 1999)

Référence Pays Type d'étude	Population (secteur, effectif)	Exposition prédominante (Période d'exposition) Mesure	Résultats
Shih et coll., 2000 Taiwan Transversale	Fabrication de stratifiés plaqués de cuivre 53 sujets directement exposés (47 H, 6 F)	EGME (mesures depuis 1997) EGME Air* : 3,98 ppm MAA Urines** : 19,95 mg/g créat	Diminution du taux d'hémoglobine (Hb), de l'hématocrite (Ht) et du compte des hématies (GR), chez les hommes, corrélée à la concentration de MAA urinaire (Hb, Ht et GR) et la concentration atmosphérique d'EGME (GR), après ajustement sur indice de masse corporelle et durée d'emploi  Fréquence de l'anémie : 26,1 % chez les exposés, versus 3,2 % chez les non-exposés  Pas de différence observée chez les femmes
Luo et coll., 2002 Taiwan Transversale	Semi-conducteurs 180 travailleurs de la fabrication (96 H, 84 F) 47 hors-fabrication (18 H, 29 F)	EGME Air* : < 0,28 ppm MAA Urines** : 1,26 mg/g créat  Aucune mesure d'éthers de glycol n'est présente Exposition définie par secteur de fabrication (photolithographie, implantation, diffusion) (année 2000)	Diminution significative du nombre de globules blancs et augmentation de la prévalence de la leucopénie dans le secteur de la photolithographie et implantation Mesure de la fonction hépatique (SGOT, SGPT, GGT) et mesure de la fonction rénale (créatinine). Aucune différence significative entre les groupes, sauf pour SGPT et GGT chez les femmes du département de photolithographie, à la limite de signification (p = 0,08) (ajustement sur âge, alcool, tabac, IMC, hépatite B)
Shih et coll., 2003 Taiwan Transversale	Fabrication de stratifiés plaqués de cuivre  29 sujets directement exposés  90 indirectement exposés	Trois campagnes de mesure successives en février, avril et août 1997 (dans une des entreprises de l'étude précédente) EGME Air* : 9,62 ppm ; 2,34 ppm ; 0,34 ppm MAA Urines** : 51 mg/g créat, 20 puis 7 mg/g créat  EGME Air* : 0,08 ppm MAA Urines** : 0,53 mg/g créat	Résultats de base semblables à ceux de l'étude précédente (Shih et coll., 2000)  Paramètres hématologiques revenus à la normale en avril (2,5 mois plus tard) après une réduction des expositions, stable dans l'évaluation suivante

Tableau 2.II (suite)

Référence Pays Type d'étude	Population (secteur, effectif)	Exposition prédominante (Période d'exposition) Mesure	Résultats
Loh et coll., 2003 Taiwan Transversale	Atelier d'impression dans une entreprise de sérigraphie	EGEEA : solvant nettoyage (1 000 kg/mois)	Diminution du taux d'hémoglobine et de l'hématocrite chez les femmes directement exposées comparées aux femmes indirectement exposées
	29 sujets directement exposés (17 H, 12 F)	EGEEA Air* : 4,87 ppm (H) ; 9,34 ppm (F)	Pas de différence observée chez les hommes sur ces paramètres
	56 indirectement exposés (29 H, 27 F)	EGEEA Air* : 0,07 ppm	Pas de différence observée chez les deux sexes concernant les comptes des hématies, des leucocytes et des plaquettes Corrélations négatives entre la concentration atmosphérique d'EGEEA d'une part, le taux d'hémoglobine, l'hématocrite et le compte des hématies d'autre part, après ajustement sur l'indice de masse corporelle, le sexe et le niveau d'études
Wang et coll., 2004 Chine Transversale	Fabrication de plaques photosensibles 2 entreprises 32 femmes directement exposées à l'EGEE, utilisé comme diluant de peintures 20 femmes indirectement exposées (appariées sur l'âge, le tabagisme et la consommation d'alcool)	EGEE Air* : 6,44 ppm EAA Urines** : 120,87 mg/g créat EGEE Air* : 0,56 ppm EAA Urines** : 2,71 mg/g créat	Pas de différence des taux d'hémoglobine, des comptes des hématies et des leucocytes entre les deux groupes Pas d'excès de risque de trouble menstruel lié à l'exposition Pas de différence des activités des transaminases et de la GGT Pas de plaintes plus fréquentes dans le groupe exposé

\* Concentration atmosphérique (moyenne géométrique) ; \*\* Concentration urinaire (moyenne géométrique) ; H : homme ; F : femme ; créat : créatinine ; MAA : acide méthoxyacétique.

## BIBLIOGRAPHIE

AASMOE L, WINBERG JO, AARBAKKE J. The role of liver alcohol dehydrogenase isoenzymes in the oxidation of glycoethers in male and female rats. *Toxicol Applied Pharmacol* 1998, **150** : 86-90

BOATMAN R, KNAAK J. Ethers of ethylene glycol and derivatives. In : Patty's Toxicology, fifth ed. BINGHAM E, COHRSEN B, POWELL CH (eds). John Wiley & Sons, New York, 2001 : 73-270

DANIEL L, ROBERT A, LESAVRE P, FIGARELLA-BRANGER D. Severe mesangiolytic in a patient exposed to glycol ether solvents. *Nephrol Dial Transplant* 2004, **19** : 2679

DENKHAUS W, VON STELDERN D, BOTZENHARDT U, KONIETZKO H. Lymphocyte subpopulations in solvent-exposed workers. *Int Arch Occup Environ Health* 1986, **57** : 109-115

DILL J, LEE K, BATES D, ANDERSON D, JOHNSON R, et coll. Toxicokinetics of inhaled 2-butoxyethanol and its major metabolite, 2-butoxyacetic acid, in F344 rats and B6C3F1 mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1998, **153** : 227-242

EZOV N, LEVIN-HARRUS T, MITTELMAN M, REDLICH M, SHABAT S, et coll. A chemically induced rat model of hemolysis with disseminated thrombosis. *Cardiovasc Toxicol* 2002, **2** : 181-193

GHANAYEM BI, WARD SM, CHANAS B, NYSKA A. Comparison of the acute hematoxicity of 2-butoxyethanol in male and female F344 rats. *Hum Exp Toxicol* 2000, **19** : 185-192

GHANAYEM BI, LONG PH, WARD SM, CHANAS B, NYSKA M, NYSKA A. Hemolytic anemia, thrombosis, and infarction in male and female F344 rats following gavage exposure to 2-butoxyethanol. *Exp Toxicol Pathol* 2001, **53** : 97-105

GUALIDERI JF, DEBOER L, HARRIS C, CORLEY R. Repeated ingestion of 2-butoxyethanol : case report and literature review. *J Toxicol Clin Toxicol* 2003, **41** : 57-62

HAUFROID V, THIRION F, MERTENS P, BUCHET JP, LISON D. Biological monitoring of workers exposed to low levels of 2-butoxyethanol. *Int Arch Occup Environ Health* 1997, **70** : 232-236

HOECHST. Triäthylenglykoldimethylether, rein. Subakute orale Toxizität (28 Applikationen in 29 Tagen) an männlichen und weiblichen Wistar-Ratten. Versuchsnummer 91.0579, 1992

INSERM. Ethers de Glycol. Quels risques pour la santé ? Collection Expertise collective, Éditions Inserm, Paris, 1999 : 348p

JOHNSON KA, BAKER PC, KAN HL, MAURISSEN JP, SPENCER PJ, MARTY MS. Diethylene glycol monobutyl ether (DGBE): two- and thirteen-week oral toxicity studies in Fischer 344 rats. *Food Chem toxicol* 2005, **43** : 467-481

JU SA, PYO CO, KIM SK, LEE GI, CHOE SY, KIM BS. 2-Methoxyethanol-induced suppression of *in vitro* immune responses of human peripheral blood mononuclear cells. *J Toxicol Publ Health* 1998, **14** : 55-61

KOSHKARYEV A, BARSHEIN G, NYSKA A, EZOV N, LEVIN HARRUS T, et coll. 2-Butoxyethanol enhances the adherence of red blood cells. *Arch Toxicol* 2003, **77** : 465-469

LOH CH, SHIH TS, LIOU SH, LIN YC, HSIEH AT, CHEN CY, LIAO GD. Haematological effects among silk screening workers exposed to 2-ethoxy ethyl acetate. *Occup Environ Med* 2003, **60** : E7

LONG PH, MARONPOT RR, GHANAYEM BI, ROYCROFT JH, NYSKA A. Dental pulp infarction in female rats following inhalation exposure to 2-butoxyethanol. *Toxicol Pathol* 2000, **28** : 246-252

LUO JC, HSIEH LL, CHANG MJ, HSU KH. Decreased white blood cell counts in semiconductor manufacturing workers in Taiwan. *Occup Environ Med* 2002, **59** : 44-48

MCKINNEY PE, PALMER RB, BLACKWELL W, BENSON BE. Butoxyethanol ingestion with prolonged hyperchloremic metabolic acidosis treated with ethanol therapy. *J Toxicol Clin Toxicol* 2000, **38** : 787-793

NYSKA A, MARONPOT RR, LONG PH, ROYCROFT JH, HAILEY JR, et coll. Disseminated thrombosis and bone infarction in female rats following inhalation exposure to 2-butoxyethanol. *Toxicol Pathol* 1999a, **27** : 287-294

NYSKA A, MARONPOT RR, GHANAYEM BI. Ocular thrombosis and retinal degeneration induced in female F344 rats by 2-butoxyethanol. *Hum Exp Toxicol* 1999b, **18** : 577-582

NYSKA A, MOOMAW CR, EZOV N, SHABAT S, LEVIN HARRUS T, et coll. Ocular expression of vascular cell adhesion molecule (VCAM-1) in 2-butoxyethanol-induced hemolysis and thrombosis in female rats. *Exp Toxicol Pathol* 2003, **55** : 231-236

ORTUNO J, ESTEBAN MA, MESEGUER J. Effects of four anaesthetics on the innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish Shellfish Immunol* 2002a, **12** : 49-59

ORTUNO J, ESTEBAN MA, MESEGUER J. Effects of phenoxyethanol on the innate immune system of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) exposed to crowding stress. *Vet Immunol Immunopathol* 2002b, **89** : 29-36

ORTUNO J, ESTEBAN MA, MESEGUER J. Lack of effect of combining different stressors on innate immune responses of seabream (*Sparus aurata* L.). *Vet Immunol Immunopathol* 2002c, **84** : 17-27

OSTERHOUDT KC. Fomepizole therapy for pediatric butoxyethanol intoxication. *J Toxicol Clin Toxicol* 2002, **40** : 929-930

REDLICH M, MALY A, AFRAMIAN D, SHABAT S, EZOV N, et coll. Histopathologic changes in dental and oral soft tissues in 2-butoxyethanol-induced hemolysis and thrombosis in rats. *J Oral Pathol Med* 2004, **33** : 424-429

SHABAT S, NYSKA A, LONG PH, GOELMAN G, ABRAMOVITCH R, et coll. Osteonecrosis in a chemically induced rat model of human hemolytic disorders associated with thrombosis--a new model for avascular necrosis of bone. *Calcif Tissue Int* 2004, **74** : 220-228 (Epub 2003, Sep 25)

SHIH TS, HSIEH AT, LIAO GD, CHEN YH, LIOU SH. Haematological and spermatotoxic effects of ethylene glycol monomethyl ether in copper clad laminate factories. *Occup Environ Med* 2000, **57** : 348-352

SHIH TS, HSIEH AT, CHEN YH, LIAO GD, CHEN CY, CHOU JS, LIOU SH. Follow up study of haematological effects in workers exposed to 2-methoxyethanol. *Occup Environ Med* 2003, **60** : 130-135

SINGH P, ZHAO S, BLAYLOCK BL. Topical exposure to 2-butoxyethanol alters immune responses in female BALB/c mice. *Int J Toxicol* 2001, **20** : 383-390

SINGH P, MORRIS B, ZHAO S, BLAYLOCK BL. Suppression of the contact hypersensitivity response following topical exposure to 2-butoxyethanol in female BALB/c mice. *Int J Toxicol* 2002, **21** :107-114

STAREK A, JAROSZ J, SZYMCZAK W. Comparison of the hemolytic activity of isopropoxyethanol and phenoxyethanol. *Int J Occup Med Environ Health* 2004, **17** : 339-346

TAKAGI A, YAMADA T, HAYASHI K, NAKADE Y, KOJIMA T, TAKAMATSU J, et coll. Involvement of caspase-3 mediated apoptosis in hematopoietic cytotoxicity of metabolites of ethylene glycol monomethyl ether. *Ind Health* 2002, **40** : 371-374

UDDEN MM. Rat erythrocyte morphological changes after gavage dosing with 2-butoxyethanol: a comparison with the in vitro effects of butoxyacetic acid on rat and human erythrocytes. *J Appl Toxicol* 2000, **20** : 381-387

UDDEN MM. *In vitro* sub-hemolytic effects of butoxyacetic acid on human and rat erythrocytes. *Toxicological Sciences* 2002, **69** : 258-264

UDDEN M. Effects of diethylene glycol butyl ether and butoxyethoxyacetic acid on rat and human erythrocytes. *Toxicol letters* 2005, **156** : 95-101

UDDEN M, PATTON C. Butoxyacetic acid-induced hemolysis of rat red blood cells: effect of external osmolarity and cations. *Toxicol letters* 2005, **156** : 81-93

VALENTINE R, O'NEILL AJ, LEE KP, KENNEDY GL JR. Subchronic inhalation toxicity of diglyme. *Food Chem toxicol* 1999, **37** : 75-86

WANG RS, SUDA M, GAO X, WANG B, NAKAJIMA T, HONMA T. Health effects of exposure to ethylene glycol monoethyl ether in female workers. *Ind Health* 2004, **42** : 447-451