

## FICHE DEMETER

(Documents pour l'évaluation médicale des produits toxiques vis-à-vis de la reproduction)

N° DEM 186

# 1,3-Dinitrobenzène

### SYNTHÈSE DES NIVEAUX DE PREUVE DE DANGER PAR PÉRIODES D'EXPOSITION

	À partir de données humaines	À partir de données animales
Fertilité homme	Pas de donnée disponible	Atrophie des testicules, hypospermie, altération de la spermatogenèse, lésions histologiques testiculaires (rat, souris), baisse de la mobilité spermatique (hamster)
Fertilité femme	Pas de donnée disponible	Données insuffisantes
Période équivalente au 1 <sup>er</sup> trimestre chez la femme	Pas de donnée disponible	Embryotoxicité : données insuffisantes
Période équivalente aux 2 <sup>ème</sup> et 3 <sup>ème</sup> trimestres chez la femme	Fœtotoxicité : pas de donnée disponible	Fœtotoxicité : données insuffisantes
	Effet sur le développement post-natal : pas de donnée disponible	Effet sur le développement post-natal : pas de donnée disponible
Allaitement	Pas de donnée disponible	Pas de donnée disponible

**Légende**  Pas d'effet  Pas d'évaluation possible  Preuves limitées d'un effet  Preuves suffisantes d'un effet

#### Formule

C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

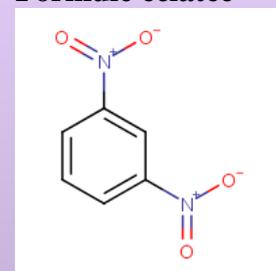
#### Numéro CAS

99-65-0

#### Famille chimique

Hydrocarbures aromatiques nitrés

#### Formule éclatée



#### Synonymes

DNB ; *m*-dinitrobenzène

#### Names / Synonyms

*m*-Dinitrobenzene

#### FT INRS

Pas de fiche

#### Biotox

Pas de fiche

#### [Glossaire](#)

### CLASSIFICATION CMR / VALEURS LIMITES

<b>Classification Cancérogène</b>	UE : non classée IARC : non classée
<b>Classification Mutagène</b>	UE : non classée
<b>Classification Reproduction</b>	UE : non classée
<b>Valeurs limites d'exposition professionnelle</b>	VME (circulaire 1984) = 0,15 ppm (1 mg/m <sup>3</sup> ) (tous isomères)

## CARACTÉRISTIQUES

<b>Propriétés physicochimiques</b>	<b>Forme</b> : solide à température ambiante.
	<b>Solubilité</b> : peu soluble dans l'eau, soluble dans l'alcool et le benzène.
	<b>Volatilité</b> : -
	<b>Données utiles pour évaluer la possibilité de passage dans le lait</b> : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Poids moléculaire : 168,1</li> <li>• pKa : -</li> <li>• Liaison protéine : -</li> <li>• Coefficient de partage n-octanol/eau (<math>K_{ow}</math>) : <math>\log K_{ow} = 1,49</math></li> </ul>
	<b>Autre</b> : -
	<b>Facteur de conversion</b> : 1 ppm = 6,9 mg/m <sup>3</sup>
<b>Toxicocinétique</b>	<b>Voies d'exposition</b> : essentiellement respiratoire (sous forme de vapeurs, poussières, aérosols) et cutanée (vapeurs ou liquide).
	<p><b>Métabolisme</b> :</p> <p>Il n'y a pas de donnée chez l'Homme.</p> <p>Chez l'animal, l'absorption digestive n'a pas été quantifiée, mais plusieurs études de toxicité par voie orale permettent de considérer qu'elle est rapide et efficace (excrétion urinaire en 2 jours de 65 à 93% de la dose administrée par voie orale chez le lapin). L'absorption pulmonaire peut se produire en cas de production de vapeurs par chauffage ou sous forme de poussières ou d'aérosols liquides de solutions de 1,3-dinitrobenzène quand le diamètre aérodynamique des particules est inférieur à 5 µm et qu'elles sont susceptibles d'atteindre les alvéoles pulmonaires. L'absorption cutanée est probable compte tenu de l'existence de cas d'intoxications rapportés après contact avec la peau. Par ailleurs, l'utilisation de solvants amphiphiles facilitent l'absorption percutanée du 1,3-dinitrobenzène.</p> <p>Après absorption, il atteint la circulation générale et se distribue dans tout l'organisme. Après une administration orale chez le rat, les concentrations les plus élevées ont été mesurées dans le foie et les graisses, et de plus faibles concentrations dans les reins, le nerf sciatique, le sang, le plasma, les testicules et le tronc cérébral.</p> <p>Il semblerait que la métabolisation se fasse préférentiellement à partir de réactions impliquant la réduction des groupements NO<sub>2</sub>, plutôt que par des réactions d'oxydation. Ces premières réactions sont suivies d'acétylations et/ou de glucuro- ou sulfo-conjugaisons. Les principaux métabolites formés et identifiés sont le 2,4-diaminophénol, la 1,3-phénylènediamine, la 1,3-nitroaniline et le 2-amino-4-nitrophénol chez le lapin. D'autres métabolites minoritaires ont également été identifiés.</p> <p>Les métabolites conjugués sont éliminés dans les urines.</p> <p>La présence du 1,3-dinitrobenzène ou de ses métabolites dans le lait maternel, de même que leur passage transplacentaire ne sont pas documentés, mais la taille et les propriétés physiques du 1,3-dinitrobenzène sont en faveur d'un passage important dans les deux cas.</p>
<b>Indices biologiques d'exposition</b>	Lorsqu'il existe un biomarqueur d'exposition susceptible d'être dosé en routine par un laboratoire francophone, les indices biologiques d'exposition utilisables sont signalés dans la base Biotox accessible par le lien positionné en 1 <sup>ère</sup> page. Dans le cas contraire, les Indices biologiques d'exposition éventuellement publiés à l'étranger ne sont pas signalés dans Demeter.

## DANGERS POUR LA REPRODUCTION

<b>Principales données humaines</b>	
<b>Références bibliographiques</b>	<b>Protocole</b>
	<i>Étude</i> : - <i>Population</i> : -  <i>Groupes de comparaison</i> : -  <i>Répondants (%)</i> : -  <i>Mesure des expositions</i> : -
	<i>Choix de l'effet analysé</i> : -  <i>Puissance</i> : -  <i>Biais, facteurs de confusion ou d'interaction</i> : -
	<b>Résultats</b>
	-
<b>Synthèse des données humaines</b>	
Aucune étude sur la reproduction ou le développement n'a été identifiée.	

<b>Principales données animales</b>	
<b>Références bibliographiques</b>	<b>Protocole</b>
Oh JH, Heo SH, Park HJ, Choi MS et al. - Genomic and proteomic analyses of 1,3-dinitrobenzene-induced testicular toxicity in Sprague–Dawley rats. <i>Reprod Toxicol.</i> 2014 ; 43 : 45-55.	<i>Étude</i> : toxicité à doses répétées (1, 3 ou 7 jours) <i>Voie d'exposition</i> : voie orale (gavage) <i>Animal</i> : rat <i>Sexe</i> : mâle <i>Substance</i> : 1,3-dinitrobenzène
	<i>Doses</i> : 0, 3, 7 ou 15 mg/kg/j (1, 3 ou 7 jours consécutifs) <i>Modalité de traitement</i> : - <i>Traitement pendant la période de gestation</i> : - <i>BPL</i> : non <i>Méthode OCDE</i> : nd <i>Cotation Klimisch</i> : 2
	<b>Description des principaux effets observés</b>
	<p>À la plus forte dose, le 1,3-dinitrobenzène a entraîné une baisse significative du poids des testicules et de l'épididyme après 1, 3 ou 7 jours de traitement. Les analyses histologiques ont montré des lésions au niveau des testicules et des épидидymes d'autant plus sévères que la dose et la durée d'exposition ont été plus importantes (atrophie des tubes séminifères, cellules multinucléées, oligospermie, débris cellulaires, etc.).</p> <p>L'analyse génomique réalisée à partir des testicules a permis de montrer que l'exposition <i>in vivo</i> au 1,3-dinitrobenzène perturbe l'expression de nombreux gènes impliqués dans l'apoptose, les jonctions entre les cellules de Sertoli et les cellules germinales et les jonctions serrées. En parallèle, l'analyse du protéome a également permis de mettre en évidence et d'identifier 36 protéines dont l'expression semble affectée par le 1,3-dinitrobenzène, ces protéines étant en particulier, impliquées dans le développement cellulaire et le métabolisme des carbohydrates.</p>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>Protocole</b>
Breslin WJ, Paulman A, Sun-Lin D, Goldstein KM et al. - The inhibin B (InhB) response to the testicular toxicants mono-2-ethylhexyl phthalate (MEHP), 1,3-dinitrobenzene (DNB), or carbendazim (CBZ)	<i>Étude</i> : toxicité à doses répétées (2 ou 7 jours) <i>Voie d'exposition</i> : voie orale (gavage) <i>Animal</i> : rat <i>Sexe</i> : mâle <i>Substance</i> : 1,3-dinitrobenzène
	<i>Doses</i> : 0 - 10 mg/kg/j (2 ou 7 jours consécutifs) <i>Modalité de traitement</i> : - <i>Traitement pendant la période de gestation</i> : - <i>BPL</i> : non <i>Méthode OCDE</i> : nd <i>Cotation Klimisch</i> : 2
	<b>Description des principaux effets observés</b>

<p>following short-term repeat dosing in the male rat. <i>Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.</i> 2013 ; 98 (1) : 72-81.</p>	<p>Une dose de 75 mg/kg, initialement prévue dans le protocole d'étude, n'a pas été tolérée par les animaux. Aussi, seuls les résultats du groupe exposé à 10 mg/kg/j ont été rapportés par les auteurs. A noter que plusieurs animaux exposés à 10 mg/kg ont été retrouvés morts ou ont été euthanasiés après 5 à 6 jours de traitement en raison de leur état clinique.</p> <p>Le poids des animaux traités 7 jours n'a pas significativement différé de celui des témoins. En revanche, le poids des testicules a diminué en moyenne de 45 % et celui de l'épididyme de 17 % chez les animaux traités 7 jours.</p> <p>Le traitement sur 2 jours n'a pas eu d'incidence sur le poids des organes de la reproduction des mâles. En revanche, une dégénérescence testiculaire a été observée chez tous les mâles traités pendant 2 jours (dégénérescence des spermatoocytes au stade pachytène, vacuolisation des cellules de Sertoli, rétention des spermatides, désorganisation multifocale des cellules germinales et cellules multinucléées).</p> <p>Chez les animaux exposés 7 jours, la dégénérescence était plus marquée et étendue, évoluant vers une atrophie des tubes séminifères.</p> <p>Les taux sériques de FSH, LH, testostérone ou inhibine B n'ont pas été modifiés par l'exposition de 2 jours au 1,3-dinitrobenzène. En revanche, après 7 jours, les concentrations sériques de testostérone et d'inhibine B ont diminué.</p>
<p><b>Références bibliographiques</b></p>	<p><b>Protocole</b></p>
<p>Sonee M, Bogdan N, Hall L, Bryant S et al. - The inhibin B response to the testicular toxicant 1, 3 dinitrobenzene in male rats. <i>Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.</i> 2013 ; 98 (1) : 29-34.</p>	<p><i>Étude</i> : toxicité à doses répétées (2 ou 5 jours) <span style="float:right"><i>Doses</i> : 0, 2, 6 mg/kg/j (2 ou 5 jours consécutifs)</span></p> <p><i>Voie d'exposition</i> : voie orale (gavage) <span style="float:right"><i>Modalité de traitement</i> : -</span></p> <p><i>Animal</i> : rat <span style="float:right"><i>Traitement pendant la période de gestation</i> : -</span></p> <p><i>Sexe</i> : mâle <span style="float:right"><i>BPL</i> : non</span></p> <p><i>Substance</i> : 1,3-dinitrobenzène <span style="float:right"><i>Méthode OCDE</i> : nd</span></p> <p style="text-align:right"><i>Cotation Klimisch</i> : 2</p>
	<p><b>Description des principaux effets observés</b></p> <p>Le traitement a eu une incidence sur le poids des testicules uniquement à la dose de 6 mg/kg administrée pendant 5 jours. L'incidence et la sévérité des lésions testiculaires ont augmenté en fonction du temps et se sont caractérisées par une dégénérescence de l'épithélium germinale, perte des spermatoocytes au stade pachytène et vacuolisation des cellules de Sertoli.</p> <p>Une réduction significative de l'inhibine B sérique a été observée uniquement au 5<sup>ème</sup> jour chez les animaux exposés à la plus forte dose (6 mg/kg), les taux de FSH n'ont pas été perturbés.</p> <p>Les auteurs ont ainsi établi une association entre les taux sériques d'inhibine B et la présence de lésions testiculaires.</p>
<p><b>Références bibliographiques</b></p>	<p><b>Protocole</b></p>
<p>Ludwig S, Tinwell H, Rouquié D, Schorsch F et al. - Potential new targets involved in 1,3-dinitrobenzene induced testicular toxicity. <i>Toxicol Lett.</i> 2012 ; 213 (2) : 275-84.</p>	<p><i>Étude</i> : toxicité à doses répétées (4 jours) <span style="float:right"><i>Doses</i> : 0, 0,1, 1, 4 et 8 mg/kg/j (4 jours) ou 1 dose unique de 4 mg/kg</span></p> <p><i>Voie d'exposition</i> : voie orale (gavage) <span style="float:right"><i>Modalité de traitement</i> : -</span></p> <p><i>Animal</i> : rat <span style="float:right"><i>Traitement pendant la période de gestation</i> : -</span></p> <p><i>Sexe</i> : mâle <span style="float:right"><i>BPL</i> : non</span></p> <p><i>Substance</i> : 1,3-dinitrobenzène <span style="float:right"><i>Méthode OCDE</i> : nd</span></p> <p style="text-align:right"><i>Cotation Klimisch</i> : 2</p>
	<p><b>Description des principaux effets observés</b></p> <p>Au cours du premier essai où les animaux ont été sacrifiés, 24h après la dernière exposition, le traitement administré pendant 4 jours n'a pas eu d'incidence sur la concentration plasmatique de testostérone, le poids du corps ou des glandes sexuelles annexes. En revanche, une diminution significative du poids des testicules (environ 17 %) a été décrite dans le groupe de rats exposés à la plus forte dose. Des lésions testiculaires (chromatine marginée des spermatoocytes, spermatides multinucléés géants, vacuolisation des cellules de Sertoli), dont l'incidence et la sévérité augmentaient avec la dose, ont été observées dans les groupes exposés aux deux plus fortes doses de 4 et 8 mg/kg/j. Les analyses transcriptomiques du testicule ont permis d'identifier la dérégulation de nombreux gènes impliqués dans la voie des kinases de type Polo, essentielle à l'entrée en mitose et la ségrégation des chromosomes au cours de la méiose.</p> <p>Dans le second essai, où les auteurs ont suivi les effets pharmacodynamiques 8, 24, 48 et 78 heures après une dose unique de 4 mg/kg, une diminution transitoire de la concentration plasmatique de testostérone a été observée à 48 h (p&lt;0,01), corrélée à l'altération de l'expression de plusieurs gènes impliqués dans la stéroïdogénèse (Star, Cyp11a1, Cyp17a1).</p>
<p><b>Références bibliographiques</b></p>	<p><b>Protocole</b></p>

<p>Irimura K, Yamaguchi M, Morinaga H, Sugimoto S et al. - Collaborative work to evaluate toxicity on male reproductive organs by repeated dose studies in rats. 26) Detection of 1,3-dinitrobenzene-induced histopathological changes in testes and epididymides of rats with 2-week daily repeated dosing. <i>J Toxicol Sci.</i> 2000 ; 25 (Spec No) : 251-58.</p>	<p><i>Étude</i> : toxicité à doses répétées</p> <p><i>Voie d'exposition</i> : orale (gavage)</p> <p><i>Animal</i> : rat</p> <p><i>Sexe</i> : mâle</p> <p><i>Substance</i> : 1,3-dinitrobenzène</p>	<p><i>Doses</i> : 0, 25, 50 mg/kg/j (4 semaines) ou 0, 25, 50 et 75 mg/kg/j (2 semaines)</p> <p><i>Modalité de traitement</i> :-</p> <p><i>Traitement pendant la période de gestation</i> :-</p> <p><i>BPL</i> : non</p> <p><i>Méthode OCDE</i> : nd</p> <p><i>Cotation Klimisch</i> : 2</p>
<b>Description des principaux effets observés</b>		
<p>Aucun signe de toxicité générale n'a été rapporté par les auteurs.</p> <p>Une atrophie testiculaire caractérisée par une diminution du poids des testicules et de l'épididyme a été observée après 4 semaines d'exposition à la dose de 50 mg/kg/j. L'épithélium testiculaire a par ailleurs montré une diminution du nombre de spermatozoïdes/spermatocytes, une dégénérescence des cellules germinales, ainsi que l'apparition de cellules multinucléées géantes. Il semblerait que les cellules de Sertoli soient la cible primaire du 1,3-dinitrobenzène, la dégénérescence des cellules germinales étant un effet secondaire.</p> <p>L'atrophie testiculaire est également visible après 2 semaines d'exposition (à partir de 50 mg/kg/j). Les lésions histologiques sont comparables à celles observées après 4 semaines d'exposition.</p> <p>Cette étude a permis de déterminer une dose sans effet (NOAEL) sur la toxicité testiculaire de 25 mg/kg/j pendant 4 semaines.</p>		
<b>Références bibliographiques</b>	<b>Protocole</b>	
<p>Linder RE, Hess RA, Strader LF - Testicular toxicity and infertility in male rats treated with 1,3-dinitrobenzene. <i>J Toxicol Environ Health.</i> 1986 ; 19 (4) : 477-89.</p>	<p><i>Étude</i> : subchronique (90 jours)</p> <p><i>Voie d'exposition</i> : orale (gavage)</p> <p><i>Animal</i> : rat</p> <p><i>Sexe</i> : mâle</p> <p><i>Substance</i> : 1,3-dinitrobenzène</p>	<p><i>Doses</i> : 0, 0,75, 1,5, 3 et 6 mg/kg/j</p> <p><i>Modalité de traitement</i> :-</p> <p><i>Traitement pendant la période de gestation</i> :-</p> <p><i>BPL</i> : non</p> <p><i>Méthode OCDE</i> : nd</p> <p><i>Cotation Klimisch</i> : 2</p>
<b>Description des principaux effets observés</b>		
<p>Après 10 semaines de traitement, les mâles ont été accouplés avec des femelles non traitées.</p> <p>Une toxicité sévère (mortalité) a été rapportée dans le groupe exposé à la plus forte dose de 6 mg/kg/j après 10 semaines de traitement (arrêt anticipé des accouplements au bout de 4 jours). A la dose inférieure de 3 mg/kg/j, les auteurs n'ont noté aucun signe clinique, ni de variation de poids par comparaison au groupe témoin. A noter toutefois, à l'autopsie, une augmentation du poids de la rate des animaux des groupes exposés à 3 et 1,5 mg/kg/j.</p> <p>Aucune portée (échec d'implantation) n'a été obtenue dans le groupe où les mâles ont été exposés à 3 mg/kg/j. Aux doses de 0,75 et 1,5 mg/kg/j, le nombre de sites d'implantation/portée et le pourcentage de résorptions n'ont pas significativement varié entre groupes traités et témoin. En revanche, une baisse significative du nombre de fœtus vivants/portée a été observée dans ces deux groupes traités.</p> <p>Le poids des organes reproducteurs (testicules et épидидyme) a significativement diminué uniquement dans le groupe exposé à 3 mg/kg/j, les paramètres spermatiques étant significativement perturbés à partir de 1,5 mg/kg/j (nombre de spermatozoïdes/g de testicule), sans altération de la motilité et la morphologie.</p> <p>Une dose sans effet (NOAEL) sur la fertilité des mâles de 0,75 mg/kg/j a été déterminée à partir de cette étude.</p>		
<b>Références bibliographiques</b>	<b>Protocole</b>	
<p>Cody TE, Witherup S, Hastings L, Stemmer K et al. - 1,3-Dinitrobenzene: toxic effects in vivo and in vitro. <i>J Toxicol Environ Health.</i> 1981 ; 7 (5) : 829-</p>	<p><i>Étude</i> : toxicité à doses répétées (16 semaines)</p> <p><i>Voie d'exposition</i> : orale (eau de boisson)</p>	<p><i>Doses</i> : 0, 3, 8 et 20 mg/L (soit 0, 0,05, 1,13 et 3,1 mg/kg/j) (étude préliminaire 50, 100 et 200 mg/L soit environ 7,5, 15 et 30 mg/kg/j pendant 8 semaines)</p> <p><i>Modalité de traitement</i> :-</p>

47.	<i>Animal</i> : souris <i>Sexe</i> : mâle et femelle <i>Substance</i> : 1,3-dinitrobenzène	<i>Traitement pendant la période de gestation</i> : - <i>BPL</i> : - <i>Méthode OCDE</i> : - <i>Cotation Klimisch</i> : 2
<b>Description des principaux effets observés</b>		
<p>Dans un essai préliminaire où les animaux ont reçu de l'eau contenant 50, 100 ou 200 mg/L (soit environ 7,5, 15 et 30 mg/kg/j) de 1,3-dinitrobenzène, pendant seulement 8 semaines, une mortalité importante a été observée à la plus forte dose (mortalité des 6 animaux après 4 à 5 semaines de traitement chez les mâles, et 6 à 7 semaines chez les femelles). Une atrophie testiculaire a été observée aux 3 doses (aucun effet ovarien n'a été décrit quelle que soit la dose). Les examens histologiques ont révélé une atrophie de l'épithélium germinal et une disparition des cellules de Sertoli.</p> <p>Dans l'étude de 16 semaines, le traitement n'a pas eu d'incidence sur la croissance pondérale des animaux. A partir de 8 mg/L, une augmentation du poids de la rate est rapportée par les auteurs.</p> <p>La toxicité testiculaire s'est traduite par une décroissance du poids testiculaire et une altération de la spermatogenèse à la plus forte dose testée de 20 mg/L.</p> <p>Un NOEL de 8 mg/L (1,13 mg/kg/j) a été déterminé pour l'appareil reproducteur des mâles.</p> <p>Chez les femelles, les doses de 3 mg/kg/j pendant 16 semaines ou 14 mg/kg/j pendant 8 semaines n'ont entraîné aucun effet sur le poids ou la structure histologique des ovaires.</p>		
<b>Références bibliographiques</b>	<b>Protocole</b>	
Mock OB, Casteel SW, Darmani NA, Shaddy JH et al. - 1,3-Dinitrobenzene toxicity in the least shrew, <i>Cryptotis parva</i> . <i>Environ Toxicol Chem.</i> 2005 ; 24 (10) : 2519–25.	<i>Étude</i> : toxicité à doses répétées (14 jours) <i>Voie d'exposition</i> : orale (alimentation) <i>Animal</i> : musaraigne ( <i>Cryptotis parva</i> ) <i>Sexe</i> : mâle et femelle <i>Substance</i> : 1,3-dinitrobenzène	
<b>Description des principaux effets observés</b>		
<p>Le traitement n'a pas eu d'incidence sur la croissance pondérale des mâles ou des femelles.</p> <p>À l'autopsie, les auteurs n'ont pas observé d'altération du poids de l'appareil reproducteur ou du diamètre de l'utérus chez les femelles, ni du poids absolu ou relatif des testicules chez les mâles.</p> <p>Les analyses histologiques ont toutefois permis d'observer chez les mâles une diminution de la spermatogénèse (un minimum de 25 %) chez les animaux traités, selon une relation effet-dose (3/8 animaux témoins, 3/8 à 0,26 mg/kg, 5/8 à 1,06 mg/kg, 6/6 à 4,26 mg/kg et 5/7 à 17 mg/kg).</p> <p>Une leucocytose a été observée dans tous les groupes traités et constitue l'effet le plus sensible observé dans cette étude (LOAEL). A noter également, à partir de 1,06 mg/kg/j, une augmentation du poids des glandes surrénales, ainsi qu'aux doses supérieures, une splénomégalie associée à une réduction de l'hématocrite et du taux d'hémoglobine.</p>		
<b>Références bibliographiques</b>	<b>Protocole</b>	
Peiris LD, Moore HD - Evaluation of effects of 1,3-dinitrobenzene on sperm motility of hamster using computer assisted semen analysis (CASA). <i>Asian J Androl.</i> 2001 ; 3 (2) : 109-14.	<i>Étude</i> : toxicité à doses répétées (4 semaines) <i>Voie d'exposition</i> : orale (eau de boisson) <i>Animal</i> : hamster (Golden) <i>Sexe</i> : mâle <i>Substance</i> : 1,3-dinitrobenzène	
<b>Description des principaux effets observés</b>		
<p>Une analyse informatisée de la trajectoire des spermatozoïdes <i>in vitro</i> (Test CASA) a été réalisée sur les gamètes de hamster prélevés dans la partie distale du corps ou de la queue de l'épididyme. Les</p>		

animaux ont été au préalable traités par différentes doses de 1,3-dinitrobenzène administré dans l'eau de boisson. La cinétique de déplacement des spermatozoïdes a été déterminée à partir de l'analyse de la vitesse curvilinéaire (VCL) et de la vitesse de progression linéaire (VSL). Chez les animaux traités quotidiennement, une soudaine diminution de la mobilité (VCL et VSL) des spermatozoïdes prélevés dans la région du corps de l'épididyme a été observée à partir de la 3<sup>ème</sup> semaine de traitement ( $p < 0,01$ ), avec une légère reprise progressive au cours de la 4<sup>ème</sup> ( $p < 0,01$ ) et 5<sup>ème</sup> semaine ( $p < 0,05$ ).

Concernant, les spermatozoïdes prélevés au niveau de la queue de l'épididyme, les effets ont été visibles dès la première (VCL) ou deuxième semaine (VSL), les valeurs de VCL étant les plus basses à la 3<sup>ème</sup> semaine ( $p < 0,01$ ). La mobilité des spermatozoïdes a néanmoins retrouvé un niveau comparable à celle des témoins au cours des 5<sup>ème</sup> et 6<sup>ème</sup> semaines.

Les essais *in vitro* réalisés en parallèle ont par ailleurs mis en évidence une baisse de la capacité de fertilisation des spermatozoïdes de ces mêmes animaux entre 1 et 5 semaines, pratiquement nulle entre 3 et 4 semaines.

Les autres modalités du traitement n'ont pas eu d'incidence significative sur la mobilité des spermatozoïdes (pas de test de fertilisation *in vitro* effectué).

### Synthèse des données animales

#### Fertilité

Le 1,3-dinitrobenzène entraîne une altération de la fertilité des mâles et une forte toxicité testiculaire chez l'animal (NOAEL de 0,75 mg/kg/j chez le rat). Les effets sur l'appareil reproducteur des femelles n'ont que peu été étudiés (pas d'effet jusqu'à environ 30 mg/kg/j chez la souris).

#### Développement

Il n'y a pas d'étude de développement prénatal ou postnatal publiée à ce jour concernant le 1,3-dinitrobenzène. Une baisse du nombre de fœtus vivants/portée a été observée dans une étude de toxicité subchronique (90 jours) chez le rat.

#### Autres données pertinentes

Les effets mutagènes n'ont pas été testés sur cellules germinales.

Test utéro-trophique négatif chez la souris (Ohta R, Takagi A, Ohmukai H, Marumo H et al. – Ovariectomized mouse uterotrophic assay of 36 chemicals. *J Toxicol Sci.* 2012 ; 37 (5) : 879-89).

- Les effets du 1,3-dinitrobenzène sur la reproduction ou le développement n'ont pas été étudiés chez l'Homme aussi bien en milieu professionnel que dans le cadre d'expositions environnementales.
- Aucune étude de reproduction sur 1 ou plusieurs générations n'a été réalisée avec le 1,3-dinitrobenzène. Les études de toxicité aiguë ou à doses répétées mettent toutefois en évidence une toxicité testiculaire marquée (poids, histologie, spermatogénèse) chez le rat, la souris et le hamster. Les cellules de Sertoli ont été identifiées comme étant les cellules cibles de la toxicité au 1,3-dinitrobenzène, la dégénérescence des cellules germinales étant un événement secondaire. Les données histologiques mentionnent le plus souvent à propos des cellules gonadiques la présence de cellules multinucléées géantes et de cellules apoptotiques touchant préférentiellement les stades intermédiaires (VIII) et tardifs de la spermatogénèse, une condensation de la chromatine, ainsi qu'une vacuolisation de l'épithélium séminifère (Blackburn et al., 1988 ; Hess et al., 1988, Reader et al., 1991 ; McEuen et al., 1995 Strandgaard et al., 1998). La toxicité testiculaire est généralement plus sévère chez les animaux les plus âgés et il a également été rapporté une sensibilité accrue vis à vis de la toxicité testiculaire chez le rat, plus que chez le hamster (Linder et al., 1990 ; Obasaju et al., 1991). Il est apparu évident à partir des années 2000 que la nitro-réduction du 1,3-dinitrobenzène avec la formation de nitrosonitrobenzène, et/ou l'inhibition de l'aldéhyde déshydrogénase, déclenchaient dans la mitochondrie la formation d'espèces réactives de l'oxygène, compromettant leur capacité anti-oxydante et plus généralement leur métabolisme, limitant notamment le déroulement de la première étape de la stéroïdogenèse (conversion du cholestérol). Plus récemment, des analyses transcriptomiques et protéomiques ont été réalisées à partir de testicules de rats exposés *in vivo* au 1,3-dinitrobenzène ou de cultures cellulaires *in vitro* chez la souris (Lee et al., 2009 ; Matsuyama et al., 2011 ; Ludwig et al., 2012).

Ces études mettent en évidence des altérations de l'expression de gènes et/ou de protéines impliqués dans les mécanismes d'apoptose, de nécrose, d'adhésion cellulaire, du cycle cellulaire ou les processus de biosynthèse des hormones stéroïdes. Par ces mêmes techniques, un dysfonctionnement du système ubiquitine-protéasome, a également été décrit dans les cellules testiculaires et épидидymaires chez le rat exposé *in vivo* (Tengowski et al., 2007). Les travaux se sont également tournés vers la recherche de biomarqueurs précoces de la toxicité testiculaire induite par le 1,3-dinitrobenzène. Plusieurs auteurs ont pu observer que la concentration plasmatique d'inhibine B, isoforme majeure sécrétée chez le mâle par les cellules de Sertoli et capable de réprimer la synthèse/libération de FSH par l'adénohypophyse, était rapidement inhibée au cours des études d'exposition *in vivo* chez le rat (Breslin et al., 2013 ; Sonee et al., 2013).

- Le 1,3-dinitrobenzène ne semble pas atteindre l'appareil reproducteur des femelles jusqu'à une dose d'environ 30 mg/kg/j chez la souris (eau de boisson). De même, chez la musaraigne, le 1,3-dinitrobenzène n'a pas entraîné d'effet sur le poids de l'appareil reproducteur des femelles ou le diamètre de l'utérus jusqu'à la dose de 17 mg/kg/j.
- Aucune étude sur le développement n'a été identifiée chez l'animal. Toutefois, le mécanisme de toxicité mitochondriale, évoqué dans le cadre des effets sur la reproduction, a également été démontré vis-à-vis des cellules nerveuses. La perturbation du métabolisme mitochondrial des astrocytes, et par voie de conséquence des neurones ont été majoritairement localisées dans les régions corticales du cerveau (Kubik et al., 2015). Cette toxicité neurologique, et plus largement le fait que le 1,3-dinitrobenzène soit un poison mitochondrial, sont à prendre en compte dans le cas d'une exposition au cours de la gestation.

## CONDUITE À TENIR POUR LE MÉDECIN DU TRAVAIL

### Fertilité

Le 1,3-dinitrobenzène a été testé dans plusieurs espèces animales dans des études de toxicité à doses répétées et subchroniques. Une atteinte des testicules et de la spermatogenèse sévère ainsi qu'une altération de la fertilité ont été observées chez les mâles. Ces effets sont à considérer comme des signaux d'alerte notables de risque d'atteinte de la fertilité masculine.

Une recherche de substitution de cette substance est recommandée. Si la substitution est impossible, il faudra évaluer précisément les risques de pénétration dans l'organisme jusqu'au conceptus.

Dans le cas où le produit est susceptible de pénétrer dans l'organisme (poussières fines, vapeurs si produit chauffé, ...), on évaluera le niveau d'exposition selon les règles de l'art. En l'absence de VTR fertilité, les résultats devront être inférieurs au centième du NOAEL, soit 0,0075 mg/kg/j. Pour un homme de 70 kg, la valeur à ne pas dépasser par inhalation serait de 0,05 mg/m<sup>3</sup> en considérant qu'une personne inhale 10 m<sup>3</sup> d'air par jour de travail. Les contacts cutanés seront à éviter.

Aucun signal d'alerte d'atteinte à la fertilité n'a été relevé chez les femelles. Mais les études menées ne répondent pas aux conditions actuellement jugées comme optimales pour détecter des signaux d'alerte concernant la fertilité.

Chez l'homme comme chez la femme, des difficultés de conception seront systématiquement recherchées à l'interrogatoire durant les visites de médecine du travail. Si de telles difficultés existent, il est conseillé d'orienter la personne vers une consultation spécialisée, en fournissant au spécialiste toutes les données disponibles sur l'exposition et les produits.

### Exposition durant la grossesse

Les effets du 1,3-dinitrobenzène sur le développement embryonnaire et fœtal ont été insuffisamment étudiés. Compte tenu de la possibilité d'une pénétration dans l'organisme (poussières fines, vapeurs ou aérosols si produit chauffé, contact cutané), d'un éventuel passage transplacentaire (suggéré par les caractéristiques physico-chimiques du 1,3-dinitrobenzène) et du mode d'action de cette substance (toxicité mitochondriale), il est recommandé de ne pas exposer les femmes enceintes pendant toute la durée de la grossesse.

Si malgré tout, une exposition se produisait, il serait nécessaire d'informer la personne qui prend en charge le suivi de cette grossesse. Toutes les données concernant les conditions d'exposition lui seront fournies ainsi que les données toxicologiques. Les signaux d'alerte précédemment cités lui seront signalés. La conduite à tenir sera discutée entre ce spécialiste et le médecin du travail.

### Exposition durant l'allaitement

Aucune étude chez l'homme ou chez l'animal n'a été publiée à ce jour sur les risques pour l'enfant en cas d'exposition de la mère pendant l'allaitement. Toutefois, les caractéristiques physico-chimiques du 1,3-dinitrobenzène suggèrent un passage dans le lait maternel. Dans le doute, il est recommandé d'éviter d'exposer une femme allaitant à cette substance. Si une exposition devait se produire, une consultation auprès d'un pédiatre serait conseillée, en lui signalant cette exposition.

Les règles générales de prévention du risque chimique s'appliquent. Notamment l'employeur doit, pour toute activité susceptible de présenter un risque d'exposition, procéder à l'évaluation des risques encourus pour la santé (art. R.4412-5 du Code du travail). Il prend en compte entre autre « la nature, le degré et la durée d'exposition, les conditions dans lesquelles se déroulent les activités ».

L'employeur définit et applique les mesures de prévention visant à supprimer ou à réduire au minimum le risque d'exposition à des agents chimiques dangereux. Si les résultats de l'évaluation révèlent un risque pour la santé, ce risque doit être supprimé (art. R.4412-15 du Code du travail). En cas d'impossibilité, la substitution par un autre agent chimique moins dangereux est préconisée. Si elle n'est pas possible, l'émission de polluants doit être réduite au maximum, les polluants captés à la source et, en dernier lieu, des mesures de protection individuelle doivent être proposées.