

anses
agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Évaluation des dangers de la nicotine

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Janvier 2015

Édition scientifique



anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Évaluation des dangers de la nicotine

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Janvier 2015

Édition scientifique



Le directeur général

Maisons-Alfort, le 22 janvier 2015

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

relatif à l'évaluation des dangers de la nicotine

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.

L'Anses a été saisie le 28 mai 2014 par les Directions générales de la concurrence, consommation et répression des fraudes, du travail, de la santé et de la prévention des risques, pour la réalisation d'une expertise relative à l'évaluation des dangers de la nicotine.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Les obligations de classification, d'étiquetage, et d'emballage des recharges liquides pour cigarettes électroniques sont déduites des valeurs de toxicité aiguë de la nicotine (dose létale 50 (DL₅₀) par voie cutanée et DL₅₀ par voie orale). En effet, la section 3.1 de l'annexe I du règlement 1272/2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges dit « règlement CLP » précise que l'estimation de la toxicité aiguë pour la classification d'un mélange est dérivée :

- De la DL₅₀ ou CL₅₀ si ces données sont disponibles ;
- De la valeur de conversion appropriée, tirée du tableau 3.1.2, qui se rapporte aux résultats d'un essai donnant une gamme d'estimation, ou
- De la valeur de conversion appropriée, tirée du tableau 3.1.2, qui se rapporte à une catégorie de classification.

La nicotine dispose d'une classification harmonisée dans le tableau 3.1 de l'annexe VI du règlement CLP en tant que Acute tox. 1 : H310 « Mortel par contact cutanée », Acute tox. 3 (*) : H301 « Toxique en cas d'ingestion », et Aquatic Chronic 2 : H411 « Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme ». Cette classification actuelle est dérivée de l'ancienne classification (Directive 67/548/CEE) à partir de valeurs de conversion. Ainsi, Le classement harmonisé pour la toxicité aiguë par voie orale est signalé dans cette entrée par la

référence (*) dans la colonne «Classification» du tableau 3.1. et doit être considérée comme une classification minimum (CLP, Annexe VI, 1.2.1).

Ainsi, jusqu'à présent, la classification des recharges liquides de cigarettes électroniques était réalisée à partir de la valeur de conversion appropriée, tirée du tableau 3.1.2, qui se rapporte à une catégorie de classification. Or, le règlement CLP précise que la classification du mélange doit être dérivée de la DL₅₀ si ces données sont disponibles. L'utilisation des différentes méthodes de classification ne permettant pas d'aboutir à des classifications identiques dans le cas des recharges liquides pour cigarettes électroniques, il conviendrait que la classification des mélanges puisse être réalisée à l'aide de la méthode la plus recommandée par le règlement CLP.

L'expertise de l'Anses est particulièrement souhaitée aux fins :

- de réaliser une revue de la bibliographie existante concernant les données de toxicité aiguë par voie cutanée et par voie orale de la nicotine,
- d'identifier la valeur de DL₅₀ par voie orale et la valeur de DL₅₀ par voie cutanée de la nicotine les plus pertinentes,
- de rendre un avis sur l'opportunité de déposer un dossier de révision de classification harmonisée de la nicotine conformément à l'article 37 du règlement CLP.

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 collective a été réalisée par le comité d'experts spécialisé (CES) « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » sur la base d'un rapport initial. Des experts rapporteurs du CES « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » et du CES « Evaluation des risques chimiques liés aux articles et produits de consommation » ont été nommés pour l'instruction de ce dossier. Les travaux ont été présentés au CES « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques les 10 juillet, 19 septembre et 9 octobre 2014. Ils ont été adoptés par le CES le 9 octobre 2014.

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

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

Un conflit d'intérêt a été identifié dans le cadre de cette saisine. En conséquence, l'expert concerné a été invité à quitter la séance lorsque ce point était abordé, et n'a donc pas pris part aux débats et décisions.

Une recherche bibliographique a été réalisée afin d'obtenir toutes les données disponibles relatives aux DL₅₀ de la nicotine (consultation des bases de données internationales et nationales, rapports de synthèses, publications scientifiques). Des données complémentaires ont également été recherchées auprès des autorités françaises compétentes dans le domaine des produits phytopharmaceutiques et dans le domaine des médicaments.

Concernant les données d'exposition chez l'Homme, les référentiels et ressources utilisés par les centres antipoison dans le cadre de leur activité de réponse téléphonique à l'urgence ont été consultés.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

Voie orale

Les résultats disponibles chez l'animal sur la toxicité aiguë de la nicotine sont très hétérogènes. Les 8 valeurs de DL₅₀ par voie orale s'échelonnent de 3,34 mg/kg à 188 mg/kg selon l'étude et l'espèce considérées. Sept DL₅₀ sur 8 proviennent d'études conduites chez le rongeur (rat et souris), espèces recommandées par les lignes directrices actuelles de l'OCDE.

Ces études ont été réalisées sur 3 espèces différentes : le rat, la souris et le chien, et sont résumées dans le tableau suivant.

Méthode	DL ₅₀ (mg/kg)	Remarques	Référence
Orale, souris	3,34	Etudes non conformes aux lignes directrices OCDE actuelles	Lazutka <i>et al.</i> , 1969
Orale, souris	24		Heubner, 1938
Orale, rat	52,5		Lazutka <i>et al.</i> , 1969
Orale, rat	50-60	Etude source non disponible	Negherbon, 1959
Orale, rat	188	Etudes non conformes aux lignes directrices OCDE actuelles	Ambrose <i>et al.</i> , 1946
Orale, rat	70 (mâles et femelles) (71 femelles)	OCDE 1981	Van Den Heuvel <i>et al.</i> , 1990
Orale, rat	70 (femelles)	Up and Down procedure, ASTM (1987)	Yam, 1991 <i>et al.</i> , Lipnick <i>et al.</i> , 1995
Orale, chien	9,2	Etude non conforme aux lignes directrices OCDE actuelles	Franke <i>et al.</i> , 1932

Parmi ces études, seules deux d'entre elles se réfèrent à des lignes directrices, ou à des protocoles expérimentaux validés. Il s'agit de l'étude de Van den Heuvel *et al.*, (1990) conforme aux lignes directrices OCDE de 1981, aujourd'hui remplacées, et celle de Yam *et al.*, (1991) conforme à la méthode « up and down procedure », aujourd'hui préconisée par l'OCDE (OCDE, 2008) et l'ASTM (1987). Ces études, réalisées sur le rat, conduisent toutes deux à une DL₅₀ de 70 mg/kg.

Mis à part ces deux études, les publications disponibles sur la nicotine sont toutes très anciennes, et aucune n'est conforme à des lignes directrices. Le logiciel de la Commission européenne ToxRTool¹ a été utilisé afin de noter ces études selon la cotation de Klimisch, dans l'objectif de les discriminer. Elles ont toutes obtenu un score de 3, « Non fiable ». Cela est dû principalement au manque d'information et au peu de détails donnés sur les protocoles expérimentaux et les méthodes utilisés dans ses études.

Au total, cinq études de toxicité aiguë par voie orale sont disponibles chez le rat. On peut y retrouver une certaine cohérence puisqu'elles aboutissent toutes à des valeurs de DL₅₀ supérieures à 50 mg/kg, ce qui entrainerait une classification en catégorie 3 de la nicotine par voie orale. Cependant, les deux études chez la souris aboutissent à des DL₅₀ plus faibles,

¹ http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/eurl-ecvam/archive-publications/toxrtool

respectivement 3,34 mg/kg et 24 mg/kg (Lazutka *et al.*, 1969 ; Heubner *et al.*, 1938). Ces résultats laisseraient penser à une sensibilité plus grande de la souris aux effets de la nicotine, confirmés par les résultats de l'étude de Lazutka *et al.* (1969), conduite parallèlement chez le rat et la souris, selon le même protocole expérimental. Malgré la qualité plus qu'équivoque de ces deux études chez la souris (notamment en raison des données de mortalité identiques entre les rats et les souris, du manque d'informations sur le protocole expérimental), le choix de l'espèce apparaissant la plus sensible se pose. Ce choix serait également à mettre en perspective avec la valeur de 9,2 mg/kg obtenue chez le chien.

Les données chez l'Homme ont été rapportées dans le but d'aider au choix final des valeurs de DL₅₀. Elles sont difficilement exploitables du fait du manque d'information sur les cas rapportés et de la très grande disparité observée selon les cas. Il existe en effet une grande différence de sensibilité à la nicotine, par exemple entre non fumeurs et fumeurs, ces derniers développant une tolérance rapide (Fattinger, 1997). Il existe également d'importantes variations interindividuelles de la vitesse d'absorption de la nicotine, ainsi que de sa vitesse d'élimination, notamment en lien avec un polymorphisme génétique marqué de l'activité des cytochromes P450 et de la glucuronidation (Benowitz *et al.*, 2009). De plus, au-delà des incertitudes entourant les doses ingérées dans la plupart des expositions humaines, les doses réellement absorbées sont certainement moindres, en particulier du fait des vomissements précoces ou de la prise en charge médicale. Les données biologiques permettant d'évaluer la dose interne sont le plus souvent manquantes. Aussi, la seule prise en compte de l'évaluation de la dose d'exposition surévalue probablement la dose à laquelle l'Homme peut être exposé sans effet létal telle qu'elle apparaît dans les cas publiés.

Dans un calcul peu étayé, Mayer (2014) a estimé la dose létale minimale chez l'Homme de 0,5 à 1 g, soit 7 à 14 mg/kg. Chez les adultes, les symptômes apparaissent dès une ingestion estimée de 21,25 mg (soit environ 0,3 mg/kg) de nicotine chez un patient. Des patients ayant ingéré 1,5 g ou 2 g ont survécu. Chez les enfants, les premiers signes mineurs semblent apparaître dès l'ingestion de 0,2 mg/kg de nicotine. Une demi-cigarette (soit une estimation de la quantité de nicotine comprise entre 3 et 15 mg [0,25 à 1,25 mg/kg]) provoque des symptômes modérés, alors que 2 cigarettes (soit 12 à 60 mg de nicotine [1 à 5 mg/kg]) conduisent à des symptômes sévères.

En conséquence, compte tenu :

- de l'ancienneté et de la pauvreté des données disponibles dans la littérature,
- des différences de sensibilité inter-espèces et interindividuelles,
- des données humaines montrant des premiers signes d'intoxication qui peuvent survenir dès 0,3 mg/kg chez les adultes et 0,2 mg/kg chez les enfants,

le CES estime que la possibilité d'effets à faibles doses ne peut pas être écartée en particulier chez des individus n'ayant pas développé d'accoutumance. En conséquence et par précaution, la DL₅₀ la plus faible, obtenue chez la souris, est retenue, à savoir 3,34 mg/kg (Lazutka *et al.*, 1969), et ceci malgré toutes les limites présentées par cette étude.

Afin de répondre à ces incertitudes, les experts recommandent de réaliser une étude de toxicité aiguë par voie orale de la nicotine chez la souris répondant aux critères de qualité recommandés à l'heure actuelle, afin de disposer de valeurs valides chez l'espèce animale considérée comme la plus sensible.

Voie cutanée

Les deux valeurs de toxicité aiguë recensées pour la voie cutanée sont de 50 mg/kg et 140 mg/kg (citées dans Quarterly Bulletin, Vol. 16, 1952, et Ben-Dyke *et al.*, 1970). Ces valeurs proviennent d'études chez le lapin et le rat respectivement, deux espèces recommandées par les lignes directrices actuelles de l'OCDE. Les études sources n'étant pas disponibles, l'évaluation qualitative des études n'a pu être réalisée et aucun point du protocole n'a pu être comparé aux lignes directrices.

En conséquence, compte tenu de l'indisponibilité des études sources, le CES ne peut ni infirmer, ni confirmer la classification actuelle. Par conséquent, le CES suggère de conserver cette classification.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions et recommandations du CES « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » portant sur le choix d'une valeur de DL₅₀ pertinente pour la nicotine concernant les voies orale et cutanée. La valeur de 3,34 mg/kg pour la voie orale est retenue, et pour la toxicité aiguë par voie cutanée, les données n'étant pas disponibles, l'Agence retient la classification en catégorie 1, et considère donc que la DL₅₀ est inférieure à 50 mg/kg.

Il n'existe pas de rapport retraçant les données et discussions ayant conduit à la classification existante et aucune valeur de toxicité aiguë n'est directement disponible dans la réglementation. De plus, la nicotine n'est pas encore enregistrée sous le règlement REACH.

Concernant la problématique de classification de la nicotine, le rapport d'expertise collective conclut à une classification en catégorie 1 pour chacune des voies. Or, de nombreuses limites concernant la toxicité aiguë par voie orale ont été identifiées dans le rapport d'expertise. Les valeurs de DL₅₀ issues de ces études ne peuvent donc pas être utilisées en tant que telles pour la classification des mélanges. Dans ce cas précis, le règlement CLP prévoit l'utilisation de valeurs de conversion, construites à partir d'un intervalle de valeurs expérimentales ou d'une catégorie de classification, présentées dans le tableau ci-dessous (Tableau 3.1.2 tiré du règlement (CE) 1272/2008 « CLP » – Annexe I) :

Voies d'exposition	Catégorie de classification ou intervalles de valeurs expérimentales de toxicité aiguë	Conversion en valeurs ponctuelles estimées de toxicité aiguë (voir note 1)
Orale (mg/kg poids corporel)	0 < catégorie 1 ≤ 5	0,5
	5 < catégorie 2 ≤ 50	5
	50 < catégorie 3 ≤ 300	100
	300 < catégorie 4 ≤ 2 000	500
Cutanée (mg/kg poids corporel)	0 < catégorie 1 ≤ 50	5
	50 < catégorie 2 ≤ 200	50
	200 < catégorie 3 ≤ 1 000	300
	1 000 < catégorie 4 ≤ 2 000	1 100

En conséquence, l'Anses recommande qu'aux vues des incertitudes liées aux études sources, les valeurs de 0,5 mg/kg pour la voie orale, et de 5 mg/kg pour la voie cutanée soient utilisées pour la classification des mélanges.

Par ailleurs, l'entrée de classification 614-001-00-4 indiquée dans le tableau 3.1 de l'annexe VI du règlement CLP provient de la conversion des classifications mentionnées à l'annexe I de la directive 67/548/CEE. Le classement harmonisé pour la toxicité aiguë par voie orale est signalé dans cette entrée par la référence (*) dans la colonne «Classification» du tableau 3.1. et doit être considéré comme une classification minimum (CLP, Annexe VI, 1.2.1). Elle est appliquée si aucune donnée ou autres informations visées dans la première partie de l'annexe I n'entraîne de classification dans une catégorie plus sévère par rapport à la classification minimum. Dans le cas contraire, la classification dans la catégorie la plus sévère doit alors être appliquée. Ceci signifie que, contrairement aux autres entrées de l'annexe VI du règlement CLP, une classification différente peut être appliquée pour la toxicité aiguë par voie orale, sans qu'il soit nécessaire de modifier son entrée de classification harmonisée.

La revue des données disponibles conduit l'Anses à conclure qu'une classification plus sévère que celle de l'annexe VI pour la toxicité aiguë par voie orale est justifiée.

Marc Mortureux

MOTS-CLÉS

Nicotine, DL₅₀, toxicité aiguë, orale, cutanée

Demande d'avis relatif à l'évaluation des dangers de la nicotine

Saisine n° 2014-SA-0130 « Nicotine »

RAPPORT d'expertise collective

**Comité d'Experts Spécialisé « Caractérisation des dangers des substances et
valeurs toxicologiques de référence »**

Décembre 2014

Mots clés

Nicotine, DL₅₀, toxicité aiguë, orale, cutanée

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : Les experts externes, membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

RAPPORTEURS

M. Marc BARIL - Professeur associé à l'Université de Montréal – Chimiste toxicologue, VLEP

M. Jacques MANEL – Médecin toxicologue et chef du service du Centre Antipoison et de Toxicovigilance du CHU de Nancy – Médecine, Toxicologie clinique, Statistiques

M. Jean-Marc SAPORI – Praticien hospitalier, toxicologue. Responsable de la Réponse Téléphonique à l'Urgence au Centre Antipoison et de Toxicovigilance de Lyon – Hospices civils de Lyon – Médecine, Toxicologie clinique, Urgences

M. Henri SCHROEDER – Enseignant chercheur à l'URAFPA, INRA USC 340, Faculté des Sciences et Technologies, Université de Lorraine - Pharmacien biologiste - Neurotoxicité, comportement animal, développement cérébral, exposition périnatale

COMITE D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

- CES « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » – 10 juillet 2014, 19 septembre, 9 octobre 2014

Président

M. Michel GUERBET – Professeur de toxicologie à l'UFR médecine pharmacie de Rouen - Pharmacien toxicologue

Vice-président

M. Dominique LAFON – Médecin toxicologue, pilote de la thématique reproduction et travail à l'INRS – Médecine du travail, toxicologie, reprotoxicité

Membres

M. Marc BARIL - Professeur associé à l'Université de Montréal – Chimiste toxicologue, VLEP

M. Sylvain BILLET – Enseignant chercheur / maître de conférence en toxicologie à l'Université du Littoral Côte d'Opale – Toxicologie respiratoire, nanomatériaux

Mme Michèle BISSON – Responsable d'étude à l'INERIS – Pharmacien toxicologue, toxicologie générale - VTR

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

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

Mme Fatiha EL-GHISSASSI – Scientifique, Section des Monographies d'IARC (IMO) Centre International de Recherche sur le Cancer - Docteur ès science en biochimie spécialiste en cancérogénèse et génotoxicité

Mme Mounia EL-YAMANI – Responsable d'unité à l'Institut de Veille sanitaire – Docteur es science en biochimie, toxicologie, VLEP

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

M. Guillaume GARCON – Professeur de toxicologie à l'Université de Lille 2 – Toxicologie générale, cancérologie, modèles expérimentaux, toxicologie respiratoire, pollution atmosphérique

Cet expert n'a pas participé aux débats et décisions en raison d'un conflit d'intérêt.

M. Ludovic LE HEGARAT – Chef d'unité adjoint Toxicologie des contaminants - Anses – Laboratoire de Fougères- Toxicologie, génotoxicité, nanomatériaux

M. Karim MAGHNI – Professeur sous octroi agrégé à l'Université de Montréal – Toxicologie, immunologie, asthme, allergies, nanomatériaux

Mme Véronique MALARD – Ingénieur chercheur en toxicologie au Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives, Centre de Marcoule. – Toxicologie « *in vitro* », biologie cellulaire, nanotoxicologie, protéomique.

M. Fabrice MICHIELS – Médecin du travail / toxicologue au Service de santé des armées

M. Jean-Paul PAYAN – Chef du laboratoire Pénétration Cutanée, Cinétique et Métabolisme à l'INRS, Nancy – Pharmacien toxicologue, toxicocinétique

M. Henri SCHROEDER – Enseignant chercheur à l'URAFPA, INRA USC 340, Faculté des Sciences et Technologies, Université de Lorraine - Pharmacien biologiste, - Neurotoxicité, comportement animal, développement cérébral, exposition périnatale

M. Alain SIMONNARD – Chef de département à l'INRS, Nancy - Pharmacien toxicologue, toxicologie générale et reprotoxicité, anatomopathologie

M. Olivier SORG – Chef de groupe de recherche à l'Université de Genève – Docteur es science en biochimie, toxicologie expérimentale, dermatotoxicologie

Mme Lydie SPARFEL – Professeur à l'Université de Rennes 1 / IRSET 'Institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail' UMR INSERM 1085– Pharmacien Toxicologue, immunotoxicologie, toxicogénomique, cancérologie, biologie cellulaire et moléculaire

M. Jérôme THIREAU – Chargé de recherche au CNRS, Inserm U1046 Physiologie et Médecine Expérimentale, Cœur et Muscles, Montpellier – Docteur es science, physiologie animale, biologie cellulaire, cardiotoxicité

PARTICIPATION ANSES

Coordination et contribution scientifique

Mme Pauline GUILLOU

Contribution scientifique

Mme Cécile MICHEL

Mme Cecilia SOLAL

Secrétariat administratif

Mme Séverine BOIX-PETRE

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Sigles et abréviations	7
Liste des tableaux	7
1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine	8
1.1 Contexte	8
1.2 Objet de la saisine	8
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation	8
1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts	9
2 Identification de la substance	10
2.1 Noms et autres identifiants de la substance	10
2.2 Propriétés physico-chimiques	11
3 Fabrication et utilisations	12
3.1 Fabrication	12
3.2 Usages identifiés	12
4 Toxicocinétique	13
4.1 Absorption	13
4.2 Distribution	13
4.3 Métabolisation	13
4.4 Excrétion	14
5 Toxicité aiguë de la nicotine	15
5.1 Données chez l'animal	15
5.1.1 Voie orale.....	15
5.1.1.1 Etudes chez la souris.....	15
5.1.1.1.1 <i>Lazutka et al., 1969</i>	15
5.1.1.1.2 <i>Heubner et al., 1938</i>	16
5.1.1.2 Etudes chez le rat.....	16
5.1.1.2.1 <i>Lazutka et al., 1969</i>	16
5.1.1.2.2 <i>Ambrose et al., 1946</i>	16
5.1.1.2.3 <i>Van den Heuvel et al., 1990</i>	16
5.1.1.2.4 <i>Yam et al., 1991 - Lipnick et al., 1995</i>	17
5.1.1.3 Etude chez le chien.....	17
5.1.2 Voie cutanée.....	17
5.1.2.1 Etude chez le rat.....	17
5.1.2.2 Etude chez le lapin.....	17
5.2 Données chez l'Homme	17
5.2.1 Cas d'intoxications fatales.....	18
5.2.2 Autres cas d'intoxications.....	19
5.2.2.1 Adultes.....	19
5.2.2.1.1 Voie orale.....	19
5.2.2.1.2 Voie cutanée.....	20
5.2.2.2 Enfants.....	20

5.2.2.2.1	Voie orale	20
5.2.2.2.2	Voie cutanée	22
5.3	Résumé et discussion sur la toxicité aiguë.....	22
5.3.1	Chez l'animal	22
5.3.1.1	Voie orale	22
5.3.1.2	Voie cutanée	23
5.3.2	Chez l'Homme	23
6	Conclusions	24
7	Bibliographie.....	26
7.1	Publications – Rapports scientifiques.....	26
7.2	Normes.....	29
7.3	Législation et réglementation.....	29
ANNEXES	30
Annexe 1	: Lettre de saisine.....	31
Annexe 2	: Arbre décisionnel pour la classification.....	33

Sigles et abréviations

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du médicament

ASTM : American Society for Testing and Materials

ATSDR : Agency for toxic substances and diseases registry

BSA : Bloc sino-auriculaire

CAP : Centre antipoison

CAS : Chemical Abstracts Service

CCHST : Centre canadien d'hygiène et de sécurité au travail

CCTV : Comité de Coordination de Toxicovigilance

CDC : Centers for Disease Control and Prevention

CEE : Communauté Economique Européenne

CES : Comité d'Experts Spécialisé

CLP : Classification, Etiquetage, et Conditionnement (Classification, Labelling and Packaging)

CSST : Commission de la Santé et de la Sécurité du Travail

CYP : Cytochrome P450

DGCCRF : Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes

DL₅₀ : Dose Létale 50

EC : European Community

ECHA : European Chemicals Agency

EFSA : European Food Safety Authority

ICRP : International Commission on Radiological Protection

IDLH : Immediately Dangerous to Life or Health Concentrations

IPCS : International Program on Chemical Safety. Programme international sur la sécurité des substances chimiques

IRIS : Integrated Risk Information System

IUPAC : International Union of Pure and Applied Chemistry

NTP : National Toxicology Program

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Économiques

SIDS : Screening Information Data Set

UGT : UDP-glucuronyltransférase

US EPA : United States Environmental Protection Agency

Liste des tableaux

Tableau 1 : Identité de la substance _____	10
Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques _____	11
Tableau 3 : Tableau récapitulatif des études de dose létale chez l'animal pour la nicotine _____	15
Tableau 4 : Cas d'intoxications fatales à la nicotine _____	18

1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine

1.1 Contexte

L'usage des cigarettes électroniques connaît un essor important depuis plusieurs années. Devant cette utilisation de plus en plus importante, la sécurité sanitaire des utilisateurs et plus largement celle du public pouvant être en contact, est un sujet préoccupant. Parmi les composés utilisés dans les recharges liquides de cigarettes électroniques, la nicotine est identifiée comme étant celui présentant le principal danger en termes de toxicité aiguë.

La nicotine dispose aujourd'hui d'une classification harmonisée dans l'annexe VI du Règlement 1272/2008 dit « CLP » en tant que toxique de catégorie 1 : H310 « Mortel par contact cutané » et toxique de catégorie 3 (*) : H301 « toxique en cas d'ingestion ». Or, cette classification actuelle est dérivée de l'ancienne classification (Directive 67/548/CEE) à partir de valeurs de conversion, et non directement de valeurs de toxicité aiguë.

1.2 Objet de la saisine

Par courrier daté du 28 mai 2014, l'Agence a été saisie en vue de demander une expertise sur la toxicité aiguë par voie orale et cutanée de la nicotine.

Dans le cadre de cette saisine, l'expertise de l'Agence est souhaitée aux fins :

- de réaliser une revue de la bibliographie existante concernant les données de toxicité aiguë par voie cutanée et par voie orale de la nicotine,
- d'identifier la valeur de DL₅₀ par voie orale et la valeur de DL₅₀ par voie cutanée de la nicotine les plus pertinentes,
- de rendre un avis sur l'opportunité de déposer un dossier de révision de la classification harmonisée de la nicotine conformément à l'article 37 du Règlement CLP.

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié au comité d'experts spécialisé (CES) « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » l'instruction de cette saisine. Les rapporteurs suivants ont été désignés : M. Marc BARIL, et M. Henri SCHROEDER.

Par ailleurs, M. Jacques MANEL et M. Jean-Marc SAPORI ont été nommés rapporteurs dans le cadre de leur participation au CES « Evaluation des risques chimiques liés aux articles et produits de consommation ».

L'Anses a réalisé une recherche bibliographique pour obtenir toutes les données disponibles de DL₅₀ de la nicotine. Les bases de données suivantes ont été consultées : PubMed, PubChem, Scopus, ECHA (European Chemicals Agency), EFSA (European food safety authority), TOXNET, ChemIDplus, Toxline, HSDB (Hazardous Substances Data Bank), INCHEM, Fiches françaises du répertoire toxicologique de la CSST (Commission de la Santé et de la Sécurité du Travail) (français), OCDE-SIDS (Organisation de Coopération et de Développement Économiques - Screening Information Data Set) initial assessment profile, NTP (National Toxicology Program), CDC (Center for Diseases Control), ATSDR (Agency for toxic substances and diseases registry - Immediately Dangerous to Life or Health Concentrations (IDLH) and Criteria documents), CCHST

(Canadian Center for Occupational Health and Safety), US EPA (United States Environmental Protection Agency) IRIS (Integrated Risk Information System).

Sur Scopus et PubMed, la requête suivante a été utilisée : (nicotine) AND ((ld50) OR (acute toxicity) OR (lethal dose))

Compte tenu de l'utilisation de la nicotine en tant qu'insecticide, la Direction des Produits Réglementés de l'Anses a fourni les données ayant servi à la constitution du dossier de mise sur le marché. De plus, la nicotine relevant également de la Réglementation « médicaments » (aide au sevrage tabagique), l'Agence s'est également tournée vers l'ANSM afin de savoir si de nouvelles données avaient été générées dans le cadre de dossiers d'autorisation de mise sur le marché.

Les référentiels et ressources utilisés par les centres antipoison dans le cadre de leur activité de Réponse téléphonique à l'urgence ont également été consultés.

Ces informations n'ont cependant pas permis d'obtenir des données supplémentaires à celles disponibles dans la bibliographie concernant les doses létales 50 chez l'animal, ou les doses létales chez l'Homme.

Les travaux d'expertise des rapporteurs ont été soumis au CES les 10 juillet, 19 septembre et 9 octobre 2014 (tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques). Le rapport produit par les rapporteurs tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES.

Ces travaux sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires.

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

1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts

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

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

Un conflit d'intérêt a été identifié dans le cadre de cette saisine. En conséquence, l'expert concerné a été invité à quitter la séance lorsque ce point était abordé, et n'a donc pas pris part aux débats et décisions.

2 Identification de la substance

La nicotine (3-[(2S)-1-méthylpyrrolidin-2-yl]pyridine, CAS 54-11-5) dispose aujourd'hui d'une classification harmonisée dans l'annexe VI du Règlement 1272/2008 dit « CLP » en tant que toxique de catégorie 1 : H310 « Mortel par contact cutané » et toxique de catégorie 3 : H301 « toxique en cas d'ingestion ».

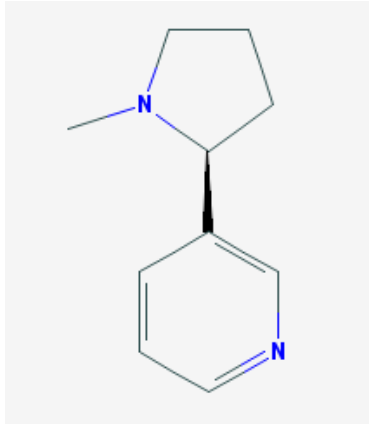
Cette classification actuelle est dérivée de l'ancienne classification (Directive 67/548/CEE) à partir de valeurs de conversion. La nicotine était à l'époque classée R25 : toxique en cas d'ingestion et R27, très toxique par contact avec la peau.

Certains industriels ont également auto-classé la substance en tant que toxique de catégorie 2 ou 1 pour la voie orale.

La nicotine existe également sous forme de sels et de mélanges disposant de numéro CAS spécifiques (US EPA, 1999). Cependant, ils ne relèvent pas de l'objet de cette saisine visant à identifier la toxicité aiguë de la nicotine contenue dans les recharges liquides de cigarettes électroniques (numéro CAS 54-11-5). De plus, l'isomère R-nicotine (CAS 25162-00-9), non présent sous forme naturelle, serait 5 à 100 fois moins actif que l'énantiomère S (Inserm, 2004 ; Tiess *et al.*, 1966 ; Hayes, 2010). Ainsi, il ne sera considéré dans cette évaluation que l'énantiomère S de la molécule.

2.1 Noms et autres identifiants de la substance

Tableau 1 : Identité de la substance

Numéro EC	200-193-3
Nom EC	Nicotine
Numéro CAS	54-11-5
Nom CAS	/
Nom IUPAC	3-[(2S)-1-méthylpyrrolidin-2-yl]pyridine
Numéro Index CLP Annexe VI	614-001-00-4
Formule moléculaire	C ₁₀ H ₁₄ N ₂
Poids moléculaire	162,23
Formule chimique	

2.2 Propriétés physico-chimiques

Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques

Propriété	Valeur	Référence
Etat de la substance (20°C, 101,3 kPa)	Liquide incolore à jaune pâle, huileux	O'Neil, 2006
Point de fusion/congélation	- 79 °C	Lide, 2007
Point d'ébullition	247 °C	Lide, 2007
Densité relative (20°C)	1,00925	O'Neil, 2006
Pression de vapeur (25°C)	0,038 mmHg	Boublik, 1984
Tension de surface (20°C)	38,61 Dynes.cm ⁻¹ = 0,03861 N.m ⁻¹	US Coast Guard, 1984-1985
Solubilité dans l'eau (25°C)	1.10 ⁶ mg/L	Seidell, 1941
Coefficient de partition n-octanol/eau (LogP)	1,17	Hansch, 1995
Point d'éclair	95°C	CDC, 2014
Inflammabilité	Liquide combustible	CDC, 2014
Point d'auto-inflammation	244°C	CSST, 2014
Constante de dissociation	pKb1 = 6,16 à 15°C; pKb2 = 10,96	Tomlin, 1994
Viscosité	Devient visqueux à l'exposition à l'air	Worthing, 1987

3 Fabrication et utilisations

3.1 Fabrication

La nicotine est le principal alcaloïde de *Nicotiana tabacum* et d'autres espèces du tabac, où il est retrouvé à des concentrations allant de 2% à 8%. La nicotine est synthétisée dans les racines du tabac à partir de l'ornithine et/ou l'arginine, elles même dégradées en putrescine. La putrescine N-méthyltransférase transfère le groupement méthyle de la S-adénosylméthionine sur la putrescine, formant ainsi la N-méthylputrescine, qui sert de précurseur à la nicotine. La nicotine est également retrouvée dans d'autres plantes appartenant à la famille des solanacées, telles que les tomates, les aubergines, les poivrons, et les pommes de terre (EFSA, 2009).

La production de nicotine par synthèse chimique est réalisable, mais peu d'information existe sur son utilisation dans l'industrie (Wagner, 2007).

3.2 Usages identifiés

La nicotine est le plus fréquemment rencontrée dans les produits dérivés du tabac à fumer, à mâcher, à priser et plus récemment, dans les dispositifs électroniques de vapotage (cigarettes électroniques ») et de chauffage du tabac.

La nicotine est également utilisée en tant qu'insecticide, bien qu'interdit en Europe depuis 2008 (European Commission, 2008), et dans les programmes de sevrage tabagique (IPCS Inchem PIM, 2014).

4 Toxicocinétique

4.1 Absorption

L'absorption de la nicotine à travers les membranes biologiques dépend considérablement du pH. En milieu acide, la nicotine est sous forme ionisée et ne passe pas facilement les membranes.

Par voie orale, sa biodisponibilité est incomplète (de 20 à 45%) en raison d'un effet de premier passage (Benowitz *et al.*, 1987). Il est à noter que ces résultats, repris dans la littérature pour la nicotine, ont été obtenus suite à des études réalisées avec un sel de nicotine, tartrate (Compton *et al.*, 1997, Zins *et al.*, 1997) ou bi tartrate (Benowitz *et al.*, 1991). Après ingestion, le pic de concentration sanguine est atteint entre 30 minutes et 1 heure. L'absorption se poursuit pendant plus de 30 minutes au niveau buccal après exposition. Les données individuelles montrent que l'absorption varie considérablement selon les individus, que ce soit pour la vitesse ou l'importance de l'absorption (EFSA, 2009, Inserm, 2004).

Par voie cutanée, la nicotine est bien absorbée à travers la peau, ce qui explique les risques professionnels de la récolte de tabac (« maladie du tabac vert ») (EFSA, 2009). Dans une étude sur 12 volontaires, l'absorption moyenne à partir d'un patch transdermique était de 14%. Chez l'animal, une dose unique de [¹⁴C] nicotine dans de l'acétone a été appliquée dans des conditions semi-occlusives sur le dos de rats Fischer 344 jeunes ou adultes à des doses de 2,6, 84 et 435 µg/cm². Trois jours après cette application, l'absorption moyenne était respectivement de 49, 84 et 88% chez les jeunes rats, et 75, 83 et 86% chez les rats adultes (Health Council of the Netherlands, 2005).

4.2 Distribution

Après absorption, la liaison de la nicotine aux protéines plasmatiques est de l'ordre de 5%. Aucune information n'a été retrouvée dans les publications scientifiques quant aux 95% restants.

A partir d'autopsies conduites chez des fumeurs, il a été déterminé que l'affinité de la nicotine est la plus élevée dans le foie, les reins, la rate, les poumons, et est faible dans le tissu adipeux. La nicotine se lie également aux tissus du cerveau avec une affinité élevée. Il est intéressant de noter dans ce cas précis que la capacité de liaison du récepteur est augmentée chez les fumeurs par rapport aux non fumeurs. Cela est dû à un plus grand nombre de récepteurs nicotiques de l'acétylcholine chez les fumeurs. La nicotine est également retrouvée dans le suc gastrique et la salive, ainsi que le lait maternel. Enfin, la nicotine traverse la barrière placentaire, et est retrouvée dans le sérum fœtal, ainsi que dans le liquide amniotique dans des concentrations légèrement supérieures à celles du sérum maternel (Benowitz *et al.*, 2009).

4.3 Métabolisation

Six métabolites primaires de la nicotine ont été identifiés (Benowitz *et al.*, 2009). Le principal d'entre eux, la cotinine, est le produit d'une oxydation hépatique par des cytochromes P450 (CYP 2A6, principalement) et correspond à la voie de détoxification majeure : 70 à 80% de la nicotine est métabolisée en cotinine chez l'Homme. La cotinine inchangée représente 10 à 15% de la nicotine et des métabolites totaux retrouvés dans l'urine. La trans-3'-hydroxycotinine est le métabolite majeur de ce composé, produit par hydroxylation. Le N-oxyde de cotinine et la 5'-hydroxycotinine ont aussi été identifiés dans l'urine humaine (Inserm, 2004). Il existe une grande variabilité individuelle du métabolisme du fait d'un important polymorphisme génétique de l'activité CYP et UDP-glucuronyltransférase (UGT) (Benowitz *et al.* 2009).

Le deuxième métabolite primaire de la nicotine en importance est la nicotine N-oxyde. Il apparaît que 4 à 7% de la nicotine chez les fumeurs serait métabolisée par cette voie.

Les reins et les poumons ont également un rôle dans la métabolisation de la nicotine (EFSA, 2009).

4.4 Excrétion

La nicotine est excrétée par filtration glomérulaire et sécrétion tubulaire, avec une réabsorption variable, dépendant du pH urinaire (Benowitz *et al.*, 2009).

La demi-vie d'élimination de la nicotine est d'environ 2 heures, mais présente une très grande variabilité interindividuelle (1 à 4 heures). Par exemple, la clairance semble plus élevée chez la femme que chez l'homme (Benowitz *et al.*, 2009). De la même façon, il a été montré qu'une courte abstinence chez les fumeurs était associée à une augmentation de la clairance. L'excrétion rénale de la nicotine inchangée dépend du pH et du flux urinaire, et représente habituellement entre 5 et 10% de l'élimination totale (Inserm, 2004).

Plusieurs facteurs influencent donc la toxicocinétique de la nicotine, parmi lesquels : l'âge, le sexe, le régime alimentaire, les traitements médicaux annexes, ou encore le fait d'être fumeur ou non (Benowitz *et al.*, 2009, Inserm, 2004).

5 Toxicité aiguë de la nicotine

5.1 Données chez l'animal

Plusieurs études sur la dose létale 50 pour la voie orale et la voie cutanée sont disponibles dans la littérature pour la nicotine. Elles sont résumées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3 : Tableau récapitulatif des études de dose létale chez l'animal pour la nicotine

Méthode	DL ₅₀ (mg/kg)	Remarques	Référence
Orale, souris	3,34	Etudes non conformes aux lignes directrices OCDE actuelles	Lazutka <i>et al.</i> , 1969
Orale, souris	24		Heubner, 1938
Orale, rat	52,5		Lazutka <i>et al.</i> , 1969
Orale, rat	50-60	Etude source non disponible	Negherbon, 1959
Orale, rat	188	Etudes non conformes aux lignes directrices OCDE actuelles	Ambrose <i>et al.</i> , 1946
Orale, rat	70 (mâles et femelles) (71 femelles)	OCDE 1981	Van Den Heuvel <i>et al.</i> , 1990
Orale, rat	70 (femelles)	Up and Down procedure, ASTM (1987)	Yam, 1991 <i>et al.</i> , Lipnick <i>et al.</i> , 1995
Orale, chien	9,2	Etude non conforme aux lignes directrices OCDE actuelles	Franke <i>et al.</i> , 1932
Cutanée, rat	140	Etudes sources non disponibles	Ben-Dyke <i>et al.</i> , 1970
Cutanée, lapin	50		Quarterly Bulletin, Vol. 16, 1952

5.1.1 Voie orale

5.1.1.1 Etudes chez la souris

5.1.1.1.1 *Lazutka et al.*, 1969

Dans cette étude, les auteurs ont comparé la toxicité de la nicotine à celle du sulfate de nicotine. Les données expérimentales ne sont pas détaillées. Vingt-cinq séries de tests ont été réalisées sur des souris blanches dont la souche n'a pas été précisée dans la publication. La nicotine et le sulfate de nicotine ont été administrés en solution aqueuse à des doses de 0,25 à 16 mg/kg, en une seule prise. Aucun détail supplémentaire n'est donné sur le protocole utilisé.

Dans cette expérimentation, 16% des animaux sont morts à la suite de l'administration de la dose minimale de 0,25 mg/kg de nicotine. A la dose de 10 mg/kg, tous les animaux sont morts. Les auteurs de cette étude ont estimé la DL₅₀ de la nicotine à **3,34 mg/kg**.

Pour information, la DL₅₀ pour le sulfate de nicotine a été estimée à 8,55 mg/kg.

5.1.1.1.2 Heubner et al., 1938

Entre 36 et 55 souris blanches dont la souche n'a pas été précisée dans la publication ont été utilisées pour évaluer la toxicité aiguë de la nicotine par voie orale. La nicotine a été administrée en solution aqueuse par gavage à 5 animaux par groupe. Le nombre d'animaux total ainsi que la valeur des doses testées dans chaque groupe ne sont pas mentionnés par les auteurs. Il est cependant indiqué que les doses administrées suivent une progression géométrique, avec un intervalle de 20%.

Pour l'estimation de la DL₅₀, la méthode de Spearman-Kärber a été utilisée. C'est une méthode statistique non paramétrique développée par Kärber (Kärber, 1931) et utilisée pour estimer la concentration létale médiane et l'intervalle de confiance à 95% associé. Cette méthode, contrairement à d'autres, ne nécessite pas un espacement égal entre toutes les doses. Ces doses doivent cependant avoir été choisies de façon à pouvoir passer d'un niveau de réponse nul à 100% de réponse.

La formule de cette méthode est la suivante :

$$m = \sum_{i=1}^{k-1} \frac{(p_{i+1} - p_i)(x_i + x_{i+1})}{2}$$

Où :

- m : $\log(DL_{50})$
- p_i : proportion de décès à la concentration i
- x_i : \log de la concentration i
- k : le nombre de concentrations testées, sans prendre en compte le groupe contrôle

Elle a permis d'estimer une DL₅₀ de **24 mg/kg**.

5.1.1.2 Etudes chez le rat

5.1.1.2.1 Lazutka et al., 1969

Cette expérimentation sur des rats fait partie de la même étude que celle décrite au chapitre 5.1.1.1.1. Vingt-cinq séries de tests ont été réalisées sur des rats blancs dont la souche n'a pas été précisée dans la publication. La nicotine et le sulfate de nicotine ont été administrés en solution aqueuse à des doses de 1 à 90 mg/kg, en une seule prise. Comme précédemment, aucun détail supplémentaire n'est donné sur le protocole utilisé.

Dans cette expérimentation, 16% des animaux sont morts à la suite de l'administration d'une dose de 20 mg/kg de nicotine. A la dose de 80 mg/kg, tous les animaux sont morts. Il est à noter que le nombre de rats et de souris décédés est identique.

Les auteurs de cette étude ont estimé la DL₅₀ de la nicotine chez le rat à **52,5 mg/kg**.

Pour information, la DL₅₀ pour le sulfate de nicotine a été estimée à 56,7 mg/kg.

5.1.1.2.2 Ambrose et al., 1946

Trente-cinq rats albinos ont été utilisés pour déterminer la toxicité aiguë de la nicotine. Le nombre de doses testées n'est pas mentionné dans l'étude. La nicotine a été dissoute dans de l'eau distillée et le pH de la solution ajusté à 7 avec de l'acide chlorhydrique.

Les auteurs indiquent que la DL₅₀ a été estimée à **188 mg/kg**. Aucun autre détail sur le protocole de l'étude n'est renseigné dans la publication.

5.1.1.2.3 Van den Heuvel et al., 1990

Ce test a été réalisé dans le cadre d'une étude internationale sous le parrainage de l'OCDE visant à valider l'utilisation de la méthode « fixed-dose procedure » en comparant les résultats et données obtenus à ceux de la méthode de DL₅₀ « classique » de toxicité aiguë. Pour cela, 20 substances, parmi lesquelles la nicotine, avait été sélectionnées. Les tests de DL₅₀

« classique » ont été réalisés en suivant les lignes directrices de l'OCDE de 1981, aujourd'hui remplacées.

Trente rats Sprague-Dawley, mâles et femelles d'âge non précisé, ont été utilisés. La valeur des doses testées n'est pas mentionnée. La DL₅₀ a été estimée à **70 mg/kg**. La DL₅₀ ne prenant en compte que des résultats chez les femelles est estimée à **71 mg/kg**, ce qui tend à montrer que la sensibilité est la même chez les rats mâles que chez les femelles.

5.1.1.2.4 Yam *et al.*, 1991 - Lipnick *et al.*, 1995

L'étude de Yam *et al.* (1991) fait suite à celle de Van den Heuvel. Les auteurs ont ici voulu comparer les résultats obtenus précédemment avec un troisième protocole, la « up and down procedure ». La méthode publiée par l'American Society for Testing Materials (ASTM, 1987) a été suivie. Cette étude a été réalisée sur 10 des 20 composés précédents.

Au total, 7 rattes Sprague-Dawley ont été utilisées pour la nicotine (Lipnick *et al.*, 1995). La valeur des doses testées n'est pas mentionnée. Avec cette méthode, la DL₅₀ est estimée à **70 mg/kg**.

5.1.1.3 Etude chez le chien

Franke *et al.* (1932) ont réalisé une étude de toxicité orale chez le chien.

La nicotine a été déposée sur la langue ou entre les lèvres et les gencives des animaux sous la forme de l'alcaloïde pur. Dix-neuf chiens, de race non spécifiée, ont été utilisés pour évaluer la toxicité orale de la substance : 2 ont reçu une dose de 4,6 à 5 mg/kg, 14 de 9,2 à 10,3 mg/kg, 1 de 12 mg/kg et 2 de 20 mg/kg.

Aucun animal n'est mort à la dose la plus faible (4,6 à 5 mg/kg). Sur les 14 chiens ayant reçu la dose de 9,2 à 10,3 mg/kg, 8 sont morts à la suite de l'administration, et 6 ont survécu. Tous les animaux sont morts aux doses supérieures (12 et 20 mg/kg).

Sur la base des résultats de ces études, une DL₅₀ de la nicotine par voie orale chez le chien a été estimée à **9,2 mg/kg** (Hayes, 2010, IPCS Inchem PIM, 2014).

5.1.2 Voie cutanée

5.1.2.1 Etude chez le rat

Une valeur chez le rat de **140 mg/kg** a été identifiée dans la revue World Review of Pest Control (Ben-Dyke, 1970). Aucune information ou référence bibliographique n'étant jointe à cette valeur, aucun détail supplémentaire n'est donc disponible sur la méthode et le protocole utilisé pour aboutir à cette valeur.

5.1.2.2 Etude chez le lapin

Une valeur de DL₅₀ par voie cutanée est mentionnée dans la littérature chez le lapin, et s'élève à **50 mg/kg**. L'étude source n'est cependant pas accessible, et aucun détail supplémentaire n'est donc disponible sur la méthode et le protocole utilisés dans cette étude.

5.2 Données chez l'Homme

Des cas d'intoxication par la nicotine ont été observées chez l'Homme, après ingestion de cigarettes, de mégots, de gommes à mâcher, de patches, de liquides de recharge de cigarettes électroniques mais aussi après application cutanée. Les principales situations à risque d'intoxication aiguë sont constituées par des expositions accidentelles de l'enfant et volontaire de l'adulte pouvant conduire à des issues fatales (CCTV, 2011).

Il convient d'attirer l'attention sur le fait que les études citées ci-dessous comportent de nombreuses limites, mettant en doute la certitude des résultats rapportés. Ces limites portent sur la faible quantité d'informations sur la nature ou la quantité réelle de nicotine ingérée ou appliquée par voie cutanée (souvent surestimée), sur la réalisation ou non de dosages biologiques et le cas échéant, sur la pertinence des nicotinémiés mesurées après vomissements, et enfin sur la mise en place d'une prise en charge médicale pouvant fortement influencer l'issue des intoxications. Ces études sont donc indiquées à titre informatif.

5.2.1 Cas d'intoxications fatales

La valeur de la dose létale par voie orale de nicotine chez l'Homme régulièrement reprise dans la littérature scientifique est de 40-60 mg. Dans une publication sur la toxicité aiguë de la nicotine, Bernd Mayer (Mayer, 2014) trouve une trace de cette valeur dans un manuel de 1906 (Kobert, 1906).

Le poids corporel humain adulte est considéré égal à 70 kg (EFSA, 2012). En conséquence, la valeur létale identifiée dans la littérature est donc de 0,6 à 0,85 mg/kg de poids corporel.

Un certain nombre de publications rapportent des cas d'intoxications fatales à la nicotine. Ce sont généralement des accidents ou des intoxications volontaires. Ces données sont reprises dans le tableau suivant.

Tableau 4 : Cas d'intoxications fatales à la nicotine

Référence	Sexe-Age	Voie d'exposition	Temps entre décès et analyse	Dosage sanguin (mg/L) et site de ponction	Remarques
Møller <i>et al.</i> , 1939	Homme, 45 ans	Orale	< 24h	28	
Maehly <i>et al.</i> , 1963	Moyenne de 16 cas	-	-	25,7	
Turner <i>et al.</i> , 1964	Moyenne de 3 cas	-	-	28,5	
Tiess and Nagel, 1966	Homme, 55 ans	Orale	63h	52	Moyenne cœur/sang périphérique
Takayasu <i>et al.</i> , 1992	Femme, 44 ans	Orale	-	6,3	
Kemp <i>et al.</i> , 1997	Femme, 31 ans	Cutanée	-	Cœur : 1,4 Fémoral : 0,46	La nicotine ne serait pas la cause du décès
Solarino <i>et al.</i> , 2010a	Homme, 46 ans	Orale et cutanée	-	Veine fémorale : 0,6	Action synergique de la nicotine et du tramadol
Corkery <i>et al.</i> , 2010	Homme, 19 ans	Orale	> 4 jours	Fémoral : sang : 5,52 Plasma : 7,44	
	Homme, 32 ans	Orale	Voir remarques	Fémoral : 1	Autopsie réalisée le lendemain de la découverte du corps
Solarino <i>et al.</i> , 2010b	Homme, 42 ans	Orale	-	Veine fémorale : 2,2	Alcool : 2,1 g/l

Sanchez et al., 1996	Homme, 32 ans	Cutanée et inhalation	11h 57h	3,7 (plasma) 1,2 (plasma)	Pas d'arrêt de la consommation tabagique associée à l'utilisation de patches
Lardi et al., 2014	Homme, 51 ans	Cutanée	Plusieurs jours	Cardiaque : 0,19 (sérum) Périphérique : 0,31 (sérum)	Diphénhydramine : 7,6 mg/l
Lavoie and Harris, 1991	Homme, 17 ans	Orale	-	13,6 (sérum)	Dose ingérée estimée à 71 mg/kg

Comme on peut le voir sur ce tableau, les valeurs sanguines de nicotine retrouvées après décès sont très variables. Plusieurs explications peuvent être proposées :

- Le temps de latence entre le décès et l'analyse, le taux de nicotine sanguine diminuant rapidement après le décès (Sanchez *et al.*, 1996),
- Le site de ponction (Kemp *et al.*, 1997 ; Lardi *et al.*, 2014)
- La présence d'un empoisonnement multiple, existant dans de nombreux cas,
- Les méthodes de mesure utilisées entre les différentes études (variant également au cours des années),

Cette variabilité des données rend également difficile l'association d'une dose interne à une dose externe de nicotine. Ces incertitudes rendent les données chez l'Homme difficilement exploitables.

Malgré cela, Bernd Mayer a essayé de se rapprocher d'une dose externe de nicotine létale pour la voie orale (Mayer, 2014). Il est parti d'une concentration interne de nicotine de 2 mg/L de sang, soit 4 mg/L de plasma, considérée par l'auteur comme une concentration létale minimale. Par comparaison, la consommation d'une cigarette entraînerait une absorption d'environ 2 mg de nicotine, et conduirait à une concentration moyenne plasmatique d'environ 0,03 mg/L (Gourlay et Benowitz, 1997). En se basant sur une biodisponibilité orale comprise entre 20% et 45%, et une cinétique linéaire (concentrations sériques variant proportionnellement à la dose administrée), une estimation de la dose minimale fatale de nicotine chez l'Homme serait de 0,5 à 1 g, soit de 6,5 à 13 mg/kg.

5.2.2 Autres cas d'intoxications

Il existe de nombreux cas d'intoxication non létaux par la nicotine repris dans la littérature. Ils sont souvent le fait d'ingestion de cigarettes ou d'exposition cutanée à des patches.

Concernant les cigarettes, un des facteurs limitants pour estimer la dose de nicotine ingérée est la grande disparité de teneur en nicotine selon le type de tabac, la marque de cigarettes, le climat de l'année de récolte etc. Ainsi, il est possible d'estimer une fourchette large de concentration de nicotine dans une cigarette comprise entre 6 et 30 mg (CCTV, 2011 ; Etter *et al.*, 2003).

Une estimation des doses rapportées au poids corporel est proposée pour chaque étude décrite ci-dessous, considérant un poids corporel d'adulte de 70 kg (cf. chapitre 5.2.1) et un poids corporel de 12 kg pour des enfants de 1 à 3 ans, et de 5 kg pour les enfants de 0 à 1 an (EFSA, 2012).

5.2.2.1 Adultes

5.2.2.1.1 Voie orale

Dans une étude de cas, Metzler (2005) s'interroge sur le bien fondé du seuil de 6 cigarettes comme susceptible de menacer le pronostic vital. En effet, il présente le cas d'un patient, admis 7 fois aux urgences en 15 mois pour ingestions de cigarettes (entre 7 et 20 cigarettes sans information sur la durée ni fréquence d'ingestion de ces cigarettes). Il n'a cependant développé

que des signes cliniques modérés (agitation, hypertension artérielle, tachycardie, vertiges, nausées). Cet auteur n'a pas retrouvé de cas de décès après ingestion de cigarettes dans la littérature de ces dernières décennies.

Il est également rapporté des cas de personnes ayant ingéré jusqu'à 2 g (environ 28,5 mg/kg) de nicotine et ayant survécu (Montalto, 1994).

Un patient non fumeur de 67 ans a tenté de se suicider en suivant une recette trouvée sur internet, consistant en 300 g de tabac à tremper dans de l'eau pendant plusieurs jours, puis l'évaporation de la préparation. Après ingestion, les pics sanguins de nicotine et cotinine ont été retrouvés au bout de 3 heures (nicotine : 322 µg/L, cotinine : 9092 µg/L). Le traitement a consisté en un lavage gastrique, la mise sous ventilation et la surveillance des fonctions vitales (Schneider, 2008).

Après l'ingestion d'une solution de nicotine, un garçon de 18 ans s'est présenté à l'hôpital avec des nausées, des douleurs abdominales, des palpitations, des maux de tête et des vertiges. Un émétique lui a été administré, et après 4 heures d'observation, il a pu repartir. Les concentrations sanguines de nicotine ne sont pas disponibles, mais la quantité maximale de nicotine ingérée a été estimée à 21,25 mg (environ 0,3 mg/kg) (Saxena, 1985).

Après ingestion de 20 mL d'une solution étiquetée comme contenant 18 mg de nicotine, une patiente n'a pas présenté de symptômes, mais a tout de même été admise aux urgences. Cette même personne a ingéré un peu plus tard, une dose de 1500 mg (environ 21,5 mg/kg) de nicotine en solution. Deux heures après l'ingestion, elle a présenté des douleurs abdominales, des nausées. Elle a été admise aux urgences et est restée en observation pendant 6 heures (Christensen, 2013).

Un homme de 24 ans a tenté de se suicider en ingérant une capsule de liquide de cigarette électronique contenant 180 mg de nicotine (soit 3 fois la dose létale couramment admise). Il a été pris de vomissements environ 10 minutes après l'ingestion. Les nausées ont ensuite continué plusieurs heures. Il a également été pris de vertiges et une tachycardie ainsi qu'une légère hypertension ont été observées. Ces symptômes ont disparu dans les 3 heures suivantes. Ni la nicotine ni la cotinine n'ont été retrouvées dans le sang du patient mais la publication ne précise pas à quel moment ont été réalisés ces dosages (Eberlein, 2014).

5.2.2.1.2 Voie cutanée

Une jeune fille de 15 ans a été retrouvée inconsciente après l'application de 14 patchs de nicotine. Environ 45 minutes après l'arrivée aux urgences, elle a repris conscience. Les concentrations sanguines de nicotine et de cotinine n'ont pas été relevées (Montalto, 1994).

Des symptômes systémiques ont eu lieu après la dispersion cutanée de liquide de recharges pour cigarettes électroniques chez 3 adultes en 2013 (Cantrell, 2014).

5.2.2.2 Enfants

5.2.2.2.1 Voie orale

Une étude prospective, réalisée par le centre antipoison (CAP) de Denver, a recensé 51 cas d'enfants, âgés de 5 mois à 2,5 ans, exposés à du tabac entre le 1er juillet 1984 et le 30 septembre 1984. Vingt-cinq enfants avaient ingéré des cigarettes, 19 des mégots et 7 du tabac à priser. Parmi les 10 enfants qui avaient absorbé plus d'une cigarette ou plus de 3 mégots, 9 étaient symptomatiques (90%) ; parmi ceux qui avaient absorbé une moindre quantité, 33,5% étaient symptomatiques. Ces symptômes étaient limités à des troubles digestifs, une agitation, une fatigue, une absence de réponse de l'enfant et des clonies des membres (dans 1 seul cas). Sur la base d'un contenu de 13 mg de nicotine par cigarette, les 25 enfants asymptomatiques avaient absorbé de 0,3 à 1 mg/kg (moyenne 0,5 mg/kg), les 7 enfants présentant des signes mineurs de 0,2 à 1,8 mg/kg (moyenne 0,8 mg/kg), et les 3 enfants présentant les signes les plus sévères 1,4, 1,8 et 1,9 mg/kg. Par ailleurs, 5 enfants ont été exposés à des gommes à mâcher. L'un a avalé une demi-gomme, et les 4 autres ont mâché de 1 à 4 gommes pendant 1 à 5 minutes. Un est resté asymptomatique ; les 4 autres ont présenté : somnolence (2 cas, marquée dans 1 cas), agitation

(2 cas), tachycardie (1 cas), hypotension artérielle (1 cas), vomissement (1 cas), douleur abdominale (1 cas) et hypersalivation (1 cas). Tous les signes étaient résolutifs dans les 4 heures (CCTV, 2011).

Les dossiers de 20 enfants qui avaient ingéré des cigarettes avant d'être admis dans un service d'urgences pédiatriques entre 1986 et 1988 ont été revus. Un seul a présenté une somnolence et une hypersudation dans les 20 minutes après l'ingestion (CCTV, 2011).

Les dossiers de 223 cas consécutifs d'ingestion de cigarettes par des enfants âgés de moins de 6 ans et pris en charge par le CAP de New York entre le 1er janvier 1993 et le 1er novembre 1995 ont été revus. Quarante enfants étaient symptomatiques : vomissements (38 cas), somnolence (3 cas), dysphagie (1 cas), mydriase (1 cas) et hypersudation (1 cas). Parmi eux, 21 avaient ingéré plus d'une cigarette, 12 plus d'un mégot, 3 plus de 2 cigarettes, 2 plus de 2 cigarettes (mais moins de 4) et 2 plus de 2 mégots de cigarettes (mais moins de 4). Parmi les 183 enfants asymptomatiques, 132 avaient ingéré plus d'une cigarette, 44 plus d'un mégot, 6 plus de 2 cigarettes et 1 plus de 2 mégots (CCTV, 2011).

Durant la période janvier 1994 – janvier 1996, le CAP de Rhode-Island a colligé 90 cas d'enfants de moins de 6 ans qui ont ingéré des cigarettes (50 cas ; moins d'une cigarette dans 36 cas) ou des mégots (40 cas ; moins d'un mégot dans 22 cas). Trente ont présenté des symptômes, tous résolutifs dans les 12 heures : vomissements (26 cas), nausées (2 cas), pâleur ou flush (2 cas), somnolence (1 cas), « haut-le-cœur » (1 cas) (CCTV, 2011).

Un nourrisson de 18 mois porteur d'une hernie inguinale et donc régulièrement suivi, s'est mis à pleurer en se tordant manifestement de douleurs abdominales après avoir ingéré le cinquième d'une cigarette. Il a ensuite vomi, est devenu pâle et somnolent. L'ECG réalisé du fait d'un pouls irrégulier a permis d'objectiver un bloc sino-auriculaire (BSA) ; l'ECG s'est progressivement normalisé en 3 jours. Trois autres cas de BSA ont également été retrouvés dans la littérature (CCTV, 2011).

Une étude rétrospective a permis de recenser 10 enfants âgés de 9 mois à 3 ans ayant ingéré une demi à 2 cigarettes. Quatre enfants (ceux qui avaient ingéré 2 cigarettes, âgés de 9, 10, 36 et 36 mois) ont présenté des signes d'intoxication sévère : salivation, vomissements, diarrhée, tachycardie, tachypnée, augmentation de la pression artérielle, dépression respiratoire, arythmie cardiaque et convulsions ; ils ont été intubés tous les 4. Les autres enfants ont seulement vomi ou présenté une hypersalivation (CCTV, 2011).

Un nourrisson de 8 mois a absorbé 2 mégots de cigarettes avant de présenter une somnolence importante et une dépression respiratoire requérant une intubation orotrachéale (CCTV, 2011).

Parmi les 4 cas d'intoxication par nicotine rapportés dans une série, 3 concernaient un enfant : un garçon de 12 ans ayant un retard mental a ingéré des mégots provenant d'un cendrier plein et a présenté une faiblesse musculaire et des nausées ; un enfant de 3 ans a présenté dans les 2 heures après l'ingestion d'une cigarette une crise hypertonique sans perte de connaissance ; enfin, un enfant de 2,5 ans a ingéré une cigarette presque complète avant de présenter une crise grand mal généralisée (CCTV, 2011).

Une fillette de 20 mois a soudainement présenté des vomissements et une diarrhée puis une crise tonico-clonique généralisée à 2 reprises. Après la détection positive de nicotine dans les urines, l'éventuelle ingestion de mégots de cigarettes restait la seule source d'exposition possible (CCTV, 2011).

Un garçon de 20 mois a présenté dans un contexte d'infection non fébrile des voies respiratoires supérieures une anorexie, un malaise, des sueurs et une diarrhée puis une crise tonico-clonique généralisée et une dyspnée. Là aussi, la détection positive de nicotine dans les urines a permis de suspecter comme seule source d'exposition un accès à des gommes à mâcher (CCTV, 2011).

Trente quatre CAP nord américains ont colligé 33 cas d'exposition d'enfants de moins de 16 ans à des patchs entre novembre 1992 et octobre 1994. Trois autres cas provenant des industriels ont été ajoutés. Les 36 enfants étaient âgés de 7 semaines à 13,5 ans (moyenne 3 ans). Seize enfants ont mâché ou sucé le patch et 2 en ont avalé un morceau : parmi eux, 13 étaient

asymptomatiques et les autres avaient une sensation de brûlure de la langue (2 cas), des nausées / vomissements (2 cas), une fatigue (1 cas) (CCTV, 2011).

Un jeune garçon a ingéré 3 mL d'une solution de nicotine (pas d'information sur la concentration). Quinze minutes plus tard, il a présenté des nausées et des frissons (Christensen, 2013).

Un enfant de 10 mois ayant ingéré une faible quantité de e-liquide (sans information plus détaillée sur la quantité), contenant 1,8% de nicotine a présenté des vomissements, une tachycardie, une respiration bruyante, et une ataxie. Sans traitement spécifique, ses paramètres sont revenus à la normale 6 heures après l'ingestion (Bassett, 2014).

5.2.2.2 Voie cutanée

Dans la même étude des CAP nord américains entre novembre 1992 et octobre 1994 sur les patchs transcutanés, dix-huit enfants ont été exposés par voie cutanée (1 minutes à 12 heures) parmi lesquels 9 étaient asymptomatiques. Les autres (généralement exposés plus de 20 minutes) ont présenté plus souvent des signes systémiques : nausées / vomissements (7 cas), somnolence (3 cas), pâleur (1 cas), diarrhée (1 cas) et tachycardie (1 cas) (CCTV, 2011).

Un enfant de 11 ans s'est appliqué, par curiosité, un patch de nicotine et a présenté nausées, fatigue, palpitations, anxiété, céphalée et douleurs abdominales. Tous ces symptômes ont régressé en 4 heures (CCTV, 2011).

Un jeune garçon de 8 ans a reçu une crème faite maison pour soigner son eczéma, à base de nicotine. Les symptômes ont démarré 30 minutes après l'application, avec notamment des vertiges, nausées, des difficultés à respirer. Son état s'est ensuite amélioré avec les soins médicaux. Douze heures après l'application du remède, les niveaux sériques de nicotine et de cotinine étaient de 89 µg/L et 1430 µg/L, respectivement. Les concentrations urinaires de nicotine et de cotinine étaient respectivement de 1120 µg/L et 6960 µg/L (Davies, 2001).

5.3 Résumé et discussion sur la toxicité aiguë

5.3.1 Chez l'animal

5.3.1.1 Voie orale

Huit valeurs de dose létale 50 concernant la nicotine ont été synthétisées dans ce rapport. Ces données sont très disparates : selon l'espèce et l'étude, elles sont comprises entre 3,34 mg/kg et 188 mg/kg.

Ces études ont été réalisées sur 3 espèces différentes : le rat, la souris et le chien. 7 DL₅₀ sur 8 proviennent d'études conduites chez le rongeur (rat et souris), espèces recommandées par les lignes directrices actuelles de l'OCDE.

Parmi ces études disponibles, seules deux d'entre elles se réfèrent à des lignes directrices, ou à des protocoles expérimentaux validés. Il s'agit de l'étude de Van den Heuvel *et al.*, (1990) conforme aux lignes directrices OCDE de 1981, aujourd'hui remplacées, et celle de Yam *et al.*, (1991) conforme à la méthode « up and down procedure », aujourd'hui préconisée par l'OCDE (OCDE, 2008) et l'ASTM (1987). Ces études ont été réalisées sur le rat, et conduisent toutes deux à une DL₅₀ de 70 mg/kg.

Mis à part ces deux études, les publications disponibles sur la nicotine sont toutes très anciennes, et aucune n'est conforme à des lignes directrices. Le logiciel de la commission européenne ToxRTool¹ a été utilisé afin de noter ces études selon la cotation de Klimisch, dans l'objectif de les

¹ http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/eurl-ecvam/archive-publications/toxrtool

discriminer. Elles ont obtenu un score de 3, « Non fiable ». Cela est dû principalement au manque d'information et au peu de détails donnés sur les protocoles expérimentaux et les méthodes utilisés dans ses études.

Au total, cinq études de toxicité aiguë par voie orale sont disponibles chez le rat pour la nicotine. On peut y retrouver une certaine concordance puisqu'elles aboutissent toutes à des valeurs de DL_{50} supérieures à 50 mg/kg. Cependant, les deux études chez la souris aboutissent à des DL_{50} plus faibles, respectivement 3,34 mg/kg et 24 mg/kg (Lazutka *et al.*, 1969 ; Heubner *et al.*, 1938). Ces résultats laisseraient penser à une sensibilité plus grande de la souris aux effets de la nicotine, confirmés par les résultats de l'étude de Lazutka *et al.* (1969) conduite parallèlement chez le rat et la souris, selon le même protocole expérimental. Malgré la qualité plus qu'équivoque de ces deux études (notamment en raison des données de mortalité identiques entre les rats et les souris, du manque d'informations sur le protocole expérimental), le choix de l'espèce apparaissant la plus sensible se pose. La décision finale serait également à mettre en perspective avec la valeur de 9,2 mg/kg obtenue chez le chien.

5.3.1.2 Voie cutanée

Les valeurs de DL_{50} pour la voie cutanée, bien que différentes, sont toutes obtenues sur des espèces recommandées par les lignes directrices actuelles de l'OCDE (lapin et rat) (OECD 402, 1987). Les études sources n'étant pas disponibles, l'évaluation qualitative des études n'a pu être réalisée et aucun point du protocole n'a pu être comparé aux lignes directrices.

5.3.2 Chez l'Homme

Les données chez l'Homme sont rapportées dans le but d'aider au choix final des valeurs de DL_{50} . Elles sont difficilement interprétables du fait du manque d'information sur les cas rapportés et de la très grande disparité observée selon les cas. En effet, au-delà des incertitudes entourant les doses ingérées dans la plupart des expositions humaines, les doses absorbées sont certainement moindres, en particulier du fait des vomissements précoces ou de la prise en charge médicale. Les données biologiques permettant d'évaluer la dose interne sont le plus souvent manquantes. Aussi, la seule prise en compte de l'évaluation de la dose d'exposition surévalue probablement la dose à laquelle l'Homme peut être exposé sans effet létal telle qu'elle apparaît dans les cas publiés.

Il existe en effet d'importantes variations interindividuelles de la vitesse d'absorption de la nicotine, ainsi que de sa vitesse d'élimination, notamment en lien avec un polymorphisme génétique marqué de l'activité des cytochromes P450 et de la glucuronidation (Benowitz *et al.*, 2009). En outre, une étude par voie intraveineuse a montré qu'il existait une tolérance aiguë très marquée aux effets cardiovasculaire après deux expositions seulement (Inserm, 2004). Les calculs, peu étayés, réalisés par Mayer (2014) fournissent une estimation de la dose létale minimale comprise entre 6,5 et 13 mg/kg.

6 Conclusions

L'Anses a été saisie le 28 mai 2014 concernant la toxicité aiguë de la nicotine, avec 3 tâches principales :

- Réaliser une revue de la bibliographie existante concernant les données de toxicité aiguë par voie cutanée et par voie orale de la nicotine,
- Identifier la valeur de DL₅₀ par voie orale et la valeur de DL₅₀ par voie cutanée de la nicotine les plus pertinentes,
- Rendre un avis sur l'opportunité de déposer un dossier de révision de la classification harmonisée de la nicotine conformément à l'article 37 du Règlement CLP.

La classification des substances et mélanges selon le Règlement 1272/2008 dit « CLP » se fait selon l'arbre décisionnel disponible en annexe 2 de ce rapport tiré du guide de l'ECHA (ECHA, 2013). La nicotine bénéficie actuellement d'une classification harmonisée à l'annexe VI du Règlement CLP en catégorie 1 pour la toxicité aiguë par voie cutanée et en catégorie 3 pour la toxicité aiguë par voie orale. Cependant, cette classification est basée sur des valeurs de conversion utilisées lors du changement de législation.

De nombreuses études animales rapportent des données de toxicité aiguë. La nicotine étant connue et utilisée depuis de nombreuses années, les études s'y référant sont donc également particulièrement anciennes. Une des conséquences est que la grande majorité de ces études ne remplit pas les critères des lignes directrices actuelles de l'OCDE.

Les résultats disponibles sur la toxicité aiguë de la nicotine sont très hétérogènes. Les huit valeurs de DL₅₀ orale s'échelonnent de 3,34 mg/kg à 188 mg/kg selon l'étude et l'espèce considérée. Les valeurs de DL₅₀ cutanées sont de 50 mg/kg chez le lapin et 140 mg/kg chez le rat.

Concernant la voie orale, deux études, réalisées chez le rat, suivent des protocoles standardisés, et aboutissent toutes deux à une valeur de DL₅₀ de 70 mg/kg. De plus, comme mentionné précédemment, l'ensemble des études réalisées chez le rat aboutissent à des DL₅₀ supérieures à 50 mg/kg, ce qui entrainerait une classification en catégorie 3 de la nicotine par voie orale. Cependant, au regard des valeurs de DL₅₀ plus faibles obtenues chez la souris (3,34 mg/kg et 24 mg/kg) et le chien (9,2 mg/kg), la question se pose, malgré la qualité équivoque de ces études, de retenir les données issues des espèces apparaissant les plus sensibles.

Les données humaines sont difficilement exploitables. Il existe notamment une grande différence de sensibilité à la nicotine, par exemple entre non fumeurs et fumeurs, ces derniers développant une tolérance rapide (Fattinger, 1997). Cette différence de sensibilité se voit aussi dans les cas rapportés par les CAP. Dans un calcul peu étayé, Mayer (2014) a estimé la dose létale minimale chez l'Homme de 0,5 à 1 g, soit 6,5 à 13 mg/kg. Chez les adultes, les symptômes apparaissent dès une ingestion estimée de 21,25 mg (soit environ 0,3 mg/kg) de nicotine chez un patient. Des patients ayant ingéré 1,5 g ou 2 g ont survécu. Chez les enfants, les premiers signes mineurs semblent apparaître dès l'ingestion de 0,2 mg/kg de nicotine. Une demi-cigarette (soit une estimation de la quantité de nicotine comprise entre 3 et 15 mg [0,25 à 1,25 mg/kg]) provoque des symptômes modérés, alors que 2 cigarettes (soit 12 à 60 mg de nicotine [1 à 5 mg/kg]) conduisent à des symptômes sévères.

En conséquence, pour la voie orale, compte tenu :

- de l'ancienneté et de la pauvreté des données disponibles dans la littérature,
- des différences de sensibilité inter-espèces et interindividuelles,
- des données humaines montrant des signes d'intoxication qui peuvent survenir dès 0,3 mg/kg chez les adultes, et 0,2 mg/kg chez les enfants,

le CES estime que la possibilité d'effets à faibles doses ne peut pas être écartée en particulier chez des individus n'ayant pas développé d'accoutumance. En conséquence et par précaution, la DL₅₀ la plus faible obtenue chez la souris est retenue, à savoir 3,34 mg/kg (Lazutka *et al.*, 1969), et ceci malgré toutes les limites de cette étude.

Afin de répondre à ces incertitudes, les experts recommandent de réaliser une étude de toxicité aiguë par voie orale de la nicotine chez la souris répondant aux critères de qualité recommandés à l'heure actuelle, afin de disposer de valeurs valides chez l'animal considéré comme le plus sensible.

En conséquence, pour la voie cutanée, compte tenu de l'indisponibilité des études sources, **le CES ne peut ni infirmer, ni confirmer la classification actuelle. Par conséquent, le CES suggère de conserver cette classification.**

Ces conclusions auraient donc pour conséquence une classification en catégorie 1 pour chaque voie, avec les mentions de danger associées suivantes : H300: Mortel en cas d'ingestion, H310: Mortel par contact cutané.

Les conséquences et modalités réglementaires de la présente évaluation seront analysées et discutées dans l'avis de l'Agence joint à ce rapport.

Date de validation du rapport d'expertise collective par le comité d'experts spécialisé :
11 décembre 2014

7 Bibliographie

7.1 Publications – Rapports scientifiques

- Ambrose AM, DeEds F (1946) Some comparative observations on I-nicotine and myosmine. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 63, 423-424
- Ben-Dyke R *et al.* (1970) Acute toxicity data for pesticide. *World Review of Pest Control*. 9, 119-127.
- Bassett RA, Osterhoudt K, Brabazon T (2014) Nicotine Poisoning in an Infant. *N Engl J Med* 370;23
- Benowitz NL, Jacob III, P, Savanapridi C (1987) Determinants of nicotine intake while chewing nicotine polacrilex gum. *Clin Pharmacol Ther*;41:467-73.
- Benowitz NL, Jacob P III, Denaro C, Jenkins R, (1991). Stable isotope studies of nicotine kinetics and bioavailability. *Clin. Pharmacol. Ther.* 49: 270-277.
- Benowitz NL, Hukkanen J et Jacob III P (2009) Nicotine Chemistry, Metabolism, Kinetics and Biomarkers. *Handb Exp Pharmacol.*; (192): 29–60.
- Boublik T, Fried V. et Hala E (1984) *The Vapour Pressures of Pure Substances*. Second Revised Edition. Amsterdam: Elsevier,
- Cantrell FL, Clark RF (2014) More on Nicotine Poisoning in Infants. *N Engl J Med* 371;9
- Centers for Disease Control (CDC). NIOSH. National Institute for Occupational Safety and Health The Emergency Response Safety and Health Database. Category index. Systemic Agents. Nicotine. <http://www.cdc.gov/> (consulté le 11/09/2014)
- Christensen LB, Van't Veen T, Bang J (2013) Three cases of attempted suicide by ingestion of nicotine liquid used in e-cigarettes (Abstract). XXXIII International Congress of the European Association of Poisons Centres and Clinical Toxicologists (EAPCCT) 28–31 May 2013, Copenhagen, Denmark. *Clinical Toxicology* Vol. 51, No. 4: 252-378
- Comité de coordination de toxicovigilance (CCTV) (2011) Evaluation du risque sanitaire lié à la présence de nicotine dans certaines cigarettes électroniques – Rapport fait à la demande de l’Afssaps - Non publié
- Commission de la santé et de la sécurité au travail (CSST). Prévention. Répertoire toxicologique. Nicotine. <http://www.csst.qc.ca/Pages/index.aspx> (consulté le 11/09/2014)
- Compton RF, Sandborn WJ, Lawson GM, Sheets AJ, Mays DC, Zins BJ, Tremaine WJ, Lipsky JJ, Mahoney DW, Zinsmeister AR, Offord KP, Hurt RD, Evans BK, Green J, (1997). A dose-ranging pharmacokinetic study of nicotine tartrate following single-dose delayed-release oral and intravenous administration. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 11: 865-874.
- Corkery JM, Button J, Vento AE, Schifano F (2010) Two UK suicides using nicotine extracted from tobacco employing instructions available on the Internet. *Forensic Sci Int* 199, e9–e13
- Davies P, Levy S, Pahari A, Martinez D (2001) Acute nicotine poisoning associated with a traditional remedy for eczema. *Arch Dis Child* ;85:500–502
- European Chemicals Agency (ECHA) (2013) Guidance on the Application of the CLP Criteria. Guidance to Regulation (EC) No 1272/2008 on classification, labelling and packaging (CLP) of substances and mixtures
- European Food Safety Authority (EFSA) (2009) EFSA statement. Potential risk for public health due to the presence of nicotine in wild mushrooms. *The EFSA Journal* RN-286.
- European Food Safety Authority (EFSA) (2012) EFSA Scientific Committee; Guidance on selected default values to be used by the EFSA Scientific Committee, Scientific Panels and Units in the

- absence of actual measured data. EFSA Journal 2012;10(3):2579. [32 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2012.2579. Available online: www.efsa.europa.eu
- Eberlein CK, Frieling H, Köhnlein T, Hillemacher T., Bleich S (2014) Suicide Attempt by Poisoning Using Nicotine Liquid For Use in Electronic Cigarettes. *Am J Psychiatry* 171:8 p. 891
- Etter JF, Kozlowski LT, Perneger TV (2003) What smokers believe about light and ultralight cigarettes. *Preventive Medicine* 36(1), pp. 92-98
- European Commission (2008) Review report for the active substance Nicotine. Finalised in the Standing Committee on the Food Chain and Animal Health at its meeting on 26 September 2008 in support of a decision concerning the non-inclusion of Nicotine in Annex I of Directive 91/414/EEC and the withdrawal of authorisations for plant protection products containing this active substance
- Fattinger K, Davide Verotta D, Benowitz NL (1997) Pharmacodynamics of Acute Tolerance to Multiple Nicotinic Effects in Humans. *JPET* 281:1238–1246
- Franke FE, Earl Thomas J (1932) A note on minimal fatal dose of nicotin for unanesthetized dogs. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 29, 1177-1179.
- Gourlay SG, Benowitz NL (1997) Arteriovenous differences in plasma concentration of nicotine and catecholamines and related cardiovascular effects after smoking, nicotine nasal spray, and intravenous nicotine. *Clin Pharmacol Ther* 62, 453, 463.
- Hansch C, Leo A, Hoekman D (1995) Exploring QSAR - Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants. Washington, DC: American Chemical Society. p. 76
- Hayes WJ (2010) Hayes' Handbook of pesticide toxicology, third edition. Volume 1. (ed Robert Krieger) pp 127-134
- Health Council of the Netherlands (2005) Committee on Updating of Occupational Exposure Limits. Nicotine; Health-based Reassessment of Administrative Occupational Exposure Limits. The Hague: Health Council of the Netherlands, 2000/15OSH/105(R).
- Heubner W, Papierkowski J (1938) Über die Giftigkeit des Nikotins für Mäuse. *Naunyn-Schmiedeberg's Archiv für Experimentelle Pathologie und Pharmakologie* 188, 605-610.
- Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm) (2004) Tabac : Comprendre la dépendance pour agir. Rapport. Paris : Les éditions Inserm XII- 473 p. - (Expertise collective).
- International Programme on Chemical Safety (IPCS) Inchem. Nicotine <http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/nicotine.htm> 22 Mai 2014 (dernière consultation le 07/08/2014)
- Kärber G (1931) Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche. *Naunyn-Schmiedeberg's Archiv für Experimentelle Pathologie und Pharmakologie* 162, 480-483.
- Kemp PM, Sneed GS, George CE, Distefano RF (1997) Postmortem distribution of nicotine and cotinine from a case involving the simultaneous administration of multiple nicotine transdermal systems, *J. Anal. Toxicol.* 21, 310–313
- Kobert R (1906) *Lehrbuch der Intoxikationen II. Band Spezieller Teil.* Verlag von Ferdinand Enke, Stuttgart, 1064–1065
- Lardi C, Vogt S, Pollak S, Thierauf A. (2014) Complex suicide with homemade nicotine patches. *Forensic Science International* 236, e14-e18
- Lavoie FW, Harris TM (1991) Fatal nicotine ingestion, *J. Emerg. Med.* 9, 133–136.
- Lazutka FA, Vasiliauskene AP, Gefen ShG. (1969) [On the toxicological assessment of the insecticide nicotine sulfate] *In Russian.* *Gig Sanit.* 34(5):30-33.
- Lide, DR (2007) *CRC Handbook of Chemistry and Physics 88TH Edition 2007-2008.* CRC Press, Taylor & Francis, Boca Raton, FL, p. 3-386
- Lipnick RL, Cotruvo JA, Hill RN, Bruce RD, Stitzel, KA, Walker AP, Chu I, Goddard M, Segal L, Springer JA, Myers RC (1995) Comparison of the Up-and-Down, Conventional LD₅₀, and Fixed-Dose Acute Toxicity Procedures. *Fd Chem. Toxic.* Vol. 33, No. 3, pp. 223-23

- Maehly AC, Bonnichsen R (1963) 46 tödliche Vergiftungsfälle mit Nicotin in Schweden 1956–1963. *Dtsch Z Gerichtl Med* 54 367–375
- Mayer B (2014) How much nicotine kills a human? Tracing back the generally accepted lethal dose to dubious self-experiments in the nineteenth century. *Archives of Toxicology* 88 (1), 5-7
- Metzler W, Wronski R, Bewig B (2005) [The lethal ingestion of cigarettes in adults: does it really exist?] - Abstract. *Dtsch Med Wochenschr.* 130(24):1491-3.
- Møller KO, Simesen M (1939) Ein fall von tödlicher nicotinvergiftung mit quantitative nicotinbestimmung in den organen, *Dtsch. Z. Ges. Gerichtl. Med.* 31 55–59.
- Montalto N, Brackett CC, Sobol T (1994). Use of transdermal nicotine systems in a possible suicide attempt. *The Journal of the American Board of Family Practice / American Board of Family Practice.*;7(5):417-20.
- Negherbon WO (1959). Nicotine. In: *Handbook of toxicology. Vol III: Insecticides. A compendium.* WB Saunders, Philadelphia, pp 508-519
- Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) (1987) OECD guideline for testing of chemicals 402. Acute dermal Toxicity.
- OCDE (2001a) OECD guideline for testing of chemicals 420. Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure.
- OCDE (2001b) OECD guideline for testing of chemicals 423. Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method.
- OCDE (2008) OECD guideline for testing of chemicals 425. Acute Oral Toxicity – Up-and-Down-Procedure (UDP)
- O'Neil MJ (ed.) (2006) *The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals.* Whitehouse Station, NJ: Merck and Co., Inc., p. 1128.
- Quarterly Bulletin--Association of Food and Drug Officials of the United States (1952) Vol. 16, Pg. 3
- Sanchez P, Ducassé JL, Lapeyre-Mestre M, Martinet O, Rougé P, Jorda MF, Cathala B (1996) Nicotine poisoning as a cause of cardiac arrest? *J. Clin. Toxicol.* 34, 475–476.
- Saxena K, Scheman A (1985) Suicide plan by nicotine poisoning: a review of nicotine toxicity. *Vet Hum Toxicol.*;27(6):495-7.
- Schneider S, Diederich N, Appenzeller B, Schartz A, Lorang C, Wennig R. (2010) Internet suicide guidelines: report of a life-threatening poisoning using tobacco extract. *J Emerg Med.* 38(5):610-3.
- Seidell A (1941) *Solubilities of Organic Compounds.* NY: d. Van Norstrand Co., Inc.
- Solarino B, Rießelmann B, Buschmann CT, Tsokos M (2010a) Document Multidrug poisoning involving nicotine and tramadol. *Forensic Science International* 194 (1-3), e17-e19
- Solarino B, Rosenbaum F, Rießelmann B, Buschmann CT, Tsokos M (2010b) Death due to ingestion of nicotine-containing solution: Case report and review of the literature. *Forensic Science International* 195 (1-3), e19-e22
- Takayasu T, Ohshima T, Lin Z, Nishigami J, Nakaya T, Maeda H, Tanaka N (1992) An autopsy case of fatal nicotine poisoning, *Nihon Hoigaku Zasshi* 46 (5), 327–332.
- Tiess D, Nagel KH (1966) Akute tödliche Vergiftung mit "Nikotin 95/98%". Beitrag zur Analytik des Gifts am frischen, gelagerten und formalinfixierten Organmaterial. *Arch Toxicol [Archiv für Toxikologie]* 22, 68–79
- Tomlin CDS (ed.) (1994) *The Pesticide Manual - World Compendium.* 10th ed. Surrey, UK: The British Crop Protection Council, p. 735
- Turner LK (1964) Nicotine – 3 fatal cases, *IAFT Mitteilungen. Bull.* 1 (3)
- United States (US) Coast Guard, Department of Transportation (1984-1985) *CHRIS - Hazardous Chemical Data. Volume II.* Washington, D.C.: U.S. Government Printing Office

US Environmental Protection Agency (US EPA) (1999) TOXICS RELEASE INVENTORY. List of Toxic Chemicals within the Nicotine and Salts Category

Van Den Heuvel MJ, Clark DG, Fielder RJ, Koundakjian PP, Oliver GJA, Pelling D, Tomlinson N, J. Walker AP (1990) The international validation of a fixed-dose procedure as an alternative to the classical LD₅₀ test. *Fd Chem. Toxic.* Vol. 28, No. 7, pp. 469-482.

Wagner FF, Comins DL (2007) Recent advances in the synthesis of nicotine and its derivatives. *Tetrahedron* 63, 8065–8082

Worthing CR et SB Walker (eds.) (1987) *The Pesticide Manual - A World Compendium*. 8th ed. Thornton Heath, UK: The British Crop Protection Council, p. 602

Yam J, Reer PJ, Bruce RD (1991) Comparison Of The Up-And-Down Method And The Fixed-Dose Procedure For Acute Oral Toxicity Testing. *Fd Chem. Toxic.* Vol. 29, No. 4, pp. 259-263.

Zins BJ, Sandborn WJ, Mays DC, Lawson GM, McKinney JA, Tremaine WJ, Mahoney DW, Zinsmeister AR, Hurt RD, Offord KP, Lipsky JJ, (1997). Pharmacokinetics of nicotine tartrate after single-dose liquid enema, oral, and intravenous administration. *J. Clin. Pharmacol.* 37: 426-436.

7.2 Normes

American Society for Testing and Materials (ASTM) (1987). E 1163 -87, Standard Test Method for Estimating Acute Oral Toxicity in Rats. American Society for Testing and Materials, Philadelphia Pa, USA.

NF X 50-110 (mai 2003) Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110).

7.3 Législation et réglementation

Règlement (CE) N° 1272/2008 du parlement européen et du conseil du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) no 1907/2006. J.O.U.E. n° L 353 du 31 décembre 2008.

Directive 67/548/CEE du Conseil, du 27 juin 1967, concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses

ANNEXES

Annexe 1 : Lettre de saisine



MINISTÈRE DE L'ÉCONOMIE, DU REDRESSEMENT
PRODUCTIF ET DU NUMÉRIQUE

MINISTÈRE DE L'ÉCOLOGIE, DU DÉVELOPPEMENT
DURABLE, ET DE L'ÉNERGIE

MINISTÈRE DES AFFAIRES SOCIALES ET DE LA
SANTÉ

MINISTÈRE DU TRAVAIL, DE L'EMPLOI
ET DU DIALOGUE SOCIAL

La Directrice générale de la concurrence, de
la consommation et de la répression des
fraudes

Le Directeur général du travail

Le Directeur général de la santé

La Directrice générale de la prévention des
risques

à

Monsieur le Directeur général de l'agence
nationale de sécurité sanitaire de
l'alimentation, de l'environnement et du
travail
27-31 rue du Général Leclerc
94701 Maisons-Alfort Cedex

Objet : Saisine relative à l'évaluation des dangers de la nicotine

Nous avons l'honneur de vous faire parvenir une saisine relative à l'évaluation des dangers de la nicotine en matière de toxicité aiguë.

La nicotine est introduite dans les recharges liquides pour cigarettes électroniques afin d'obtenir un produit proche des produits du tabac. La nicotine est la substance présente dans ces produits identifiée comme présentant le principal danger en termes de toxicité aiguë. Les autres composants sont principalement le propylène glycol et la glycérine, certains arômes et additifs.

Le règlement (CE) n°1272/2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges dit CLP prévoit différentes méthodes permettant de déterminer la classification en toxicité aiguë des mélanges. L'une de ces méthodes nécessite l'utilisation de la DL₅₀ de la substance considérée.

La nicotine est une substance qui fait l'objet d'une classification harmonisée à l'annexe VI du règlement CLP pour la toxicité aiguë. Néanmoins, les données de toxicité aiguë de la nicotine ne sont pas disponibles dans la réglementation.

L'expertise de l'Anses est plus particulièrement souhaitée aux fins :

- de réaliser une revue de la bibliographie existante concernant les données de toxicité aiguë par voie cutanée et par voie orale de la nicotine ;
- d'identifier la valeur de DL₅₀ par voie orale et la valeur de DL₅₀ par voie cutanée de la nicotine les plus pertinentes ;

- de rendre un avis sur l'opportunité de déposer un dossier de révision de la classification harmonisée de la nicotine conformément à l'article 37 du règlement CLP.

L'Anses pourra utilement se rapprocher de l'agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé concernant les données toxicologiques relatives à la nicotine utilisée dans certains médicaments, notamment dans les dispositifs transdermiques, (traitements de substitution nicotinique indiqués dans l'aide à l'arrêt du tabac), et émis un avis en mai 2011 à propos des cigarettes électroniques, ainsi que du LNE qui est en train de terminer une étude sur les dispositifs de vapotage et les liquides commanditée par la DGS.

Vous trouverez ci-jointe une note précisant le contexte pour lequel nous sollicitons votre expertise.

Nous vous remercions de bien vouloir nous accuser réception de la présente demande en précisant le ou les comités d'experts spécialisés qui sont saisis du dossier.

Je vous remercie de nous transmettre votre avis pour le 1^{er} septembre 2014 au plus tard.

**La Directrice générale de la
concurrence, de la consommation et de
la répression des fraudes**



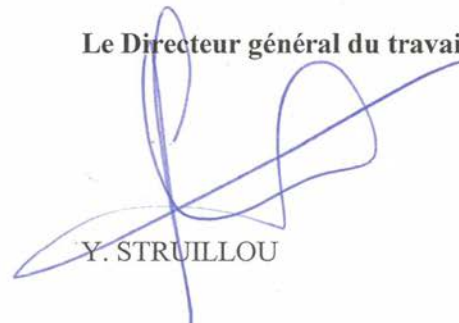
N. HOMOBONO

Le Directeur général de la santé



B. VALLET

Le Directeur général du travail



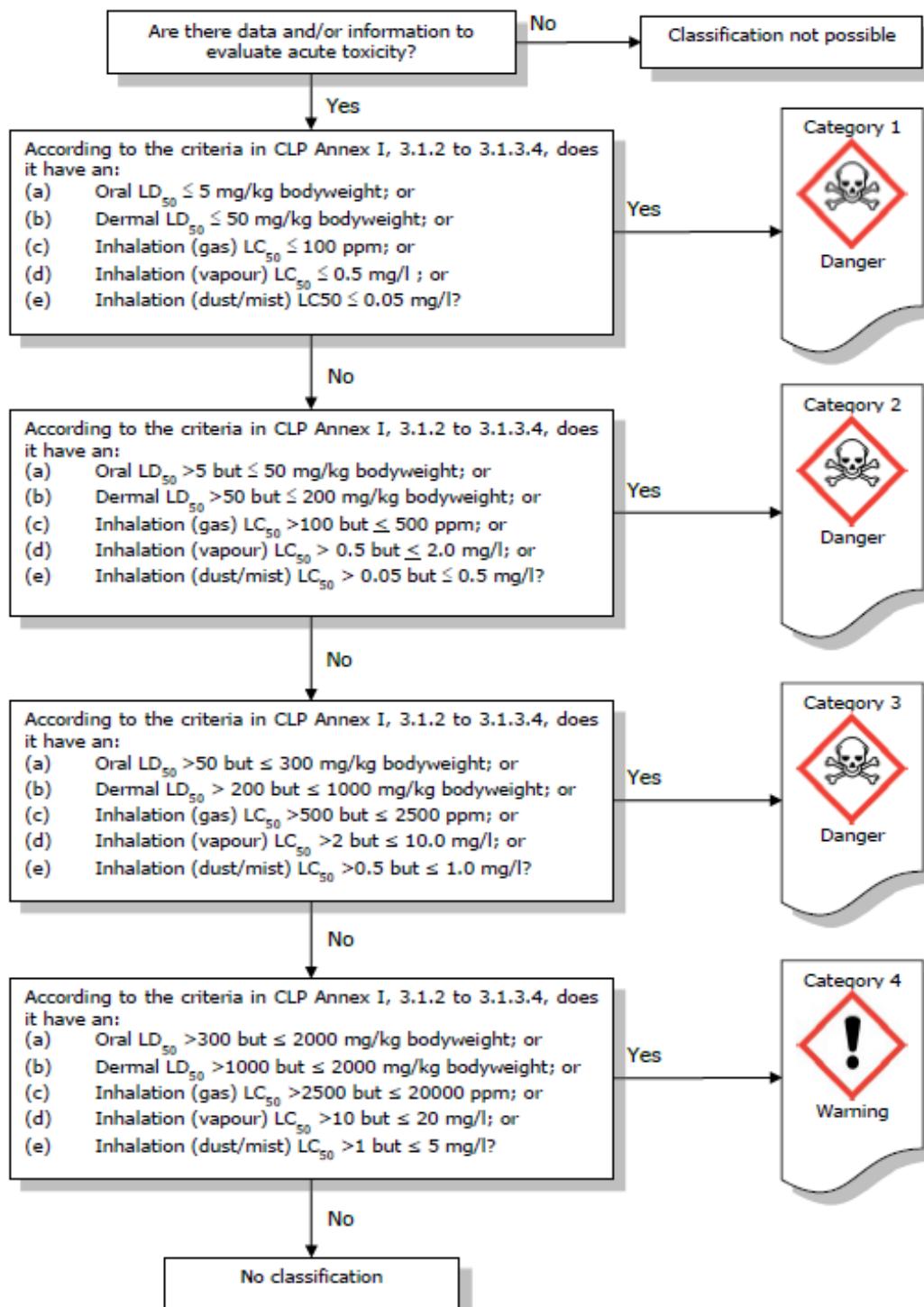
Y. STRUILLOU

**La Directrice générale de la
prévention des risques**



P. BLANC


Annexe 2 : Arbre décisionnel pour la classification



Notes





Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
14 rue Pierre et Marie Curie
94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr /  @Anses_fr