

L'acide nitrilotriacétique (NTA)

Recommandation

La concentration maximale acceptable (CMA) de l'acide nitrilotriacétique (NTA) dans l'eau potable est de 0,4 mg/L (400 µg/L).

Propriétés physico-chimiques, utilisations et sources de contamination

L'acide nitrilotriacétique (NTA) est un acide aminotricarboxylique dont la formule empirique est $C_6H_9NO_6$. Dans sa forme acide non dissociée, il est composé de cristaux aciculaires ou prismatiques. Son point de fusion est de 241,5°C, sa solubilité dans l'eau à 22,5°C est de 1,28 mg/mL et le pH de la solution saturée de NTA est de 2,3.

Le NTA peut séquestrer les ions métalliques pour former des complexes hydrosolubles; il s'agit d'un agent chélateur important qui trouve de nombreuses applications industrielles. En raison de sa capacité de chélater les ions calcium et magnésium, le sel trisodique est utilisé dans les détergents à lessive comme adjuvant pour remplacer les phosphates dont l'utilisation est limitée par la loi dans certains pays à cause de leur contribution à l'eutrophisation des lacs et des étangs. En 1977, la quantité de NTA utilisée dans les détergents au Canada était de 27 299 tonnes métriques; on ne trouve pas de données plus récentes sur la consommation.¹ Le NTA est également utilisé abondamment dans le traitement de l'eau des chaudières pour prévenir l'entartrage. Il sert également, mais dans une moindre mesure, dans les domaines de la photographie, de la fabrication des textiles, de la production du papier et de la cellulose, dans les opérations de placage des métaux et de nettoyage. L'utilisation du NTA comme agent chélateur thérapeutique a été proposée pour le traitement de l'intoxication par le manganèse² et pour le traitement de la surcharge en fer étant donné son effet synergique sur la mobilisation du fer par la desferrioxamine.³

C'est principalement par l'intermédiaire des eaux usées que le NTA se retrouve dans l'environnement. Il est facilement biodégradable et, dans certaines conditions, il est dégradé par des réactions chimiques et photochimiques.⁴ Le NTA est dégradé principalement

par les microorganismes par clivage carbone-azote entraînant la formation d'intermédiaires comme l'imino-diacétate, le glyoxylate, le glycérate, la glycine et l'ammoniac;⁵⁻⁷ les produits métaboliques finaux sont le dioxyde de carbone, l'eau, l'ammoniac et le nitrate.⁴ La vitesse de la biodégradation dépend beaucoup de l'acclimatation des microorganismes,^{8,9} de la température,^{10,11} de la concentration d'oxygène dissous dans l'eau,¹² de la concentration de NTA¹³ et de la dureté de l'eau.¹⁴ La plupart des complexes NTA-métal se dégradent rapidement.

Du point de vue de la biodégradation, la demi-vie du NTA (de 1 à 100 µg/L) dans l'eau souterraine est d'environ 31 heures.¹⁵ Dans l'eau de rivières dans lesquelles les populations de microorganismes sont acclimatées, on a signalé la disparition complète du NTA à des concentrations de 5 à 50 mg/L en l'espace de deux à six jours, tandis que pour les concentrations inférieures à 5 mg/L, l'élimination se ferait en 24 heures.^{16,17} L'acclimatation des microorganismes dans l'eau de deux lacs a permis de réduire le temps d'élimination du NTA (présent à des concentrations allant jusqu'à 10 mg/L) qui est passé de six et onze jours à quatre et trois jours respectivement.¹⁸

Exposition

Le NTA est présent dans l'eau potable principalement sous forme de complexes métalliques, plutôt que sous forme d'acide libre. La quantité de NTA complexé avec des ions métalliques dépend de la concentration de l'ion métallique en cause, du NTA^{3-} et du H^+ ainsi que des constantes de formation des différents complexes.⁴ D'après un modèle de formation des complexes ion métallique-NTA, on peut prévoir qu'à une concentration de 25 ppb dans l'eau de rivière, 50 pour cent du NTA sera complexé avec les ions Cu^{2+} , 34 pour cent avec le Ni^{2+} , 9 pour cent avec le Ca^{2+} et 5 pour cent avec le Zn^{2+} .¹⁹

Étant donné que l'analyse du NTA fait appel à des techniques spécifiques et non usuelles (voir ci-dessous), cette substance ne fait pas l'objet d'une surveillance régulière dans les réseaux de distribution d'eau potable

au Canada. Une enquête nationale réalisée de novembre 1976 à février 1977 et englobant 70 municipalités canadiennes a révélé que la concentration moyenne de NTA dans l'eau potable était de 2,82 µg/L (étendue de <0,2 à 30,4 µg/L). La valeur moyenne mesurée dans des échantillons d'eau brute était de 3,88 µg/L (étendue de <0,2 à 33,5 µg/L). La concentration de NTA dans les échantillons d'eau brute et traitée n'a dépassé les 10 µg/L que dans 14 pour cent des emplacements échantillonnés.²⁰ Le NTA n'a pas été décelé dans environ 75 pour cent des 102 puits échantillonnés dans trois communautés situées dans deux provinces canadiennes (limite de détection : 10 µg/L); les concentrations mesurées dans les puits restants pour lesquels il y avait d'autres indications de pollution par les eaux usées variaient entre 15 et 250 µg/L.²¹

D'après la concentration moyenne de NTA indiquée par l'enquête nationale réalisée au Canada (2,82 µg/L)²⁰ et en supposant une consommation quotidienne moyenne d'eau de 1,5 L, on peut conclure que l'apport quotidien moyen de NTA à partir de l'eau potable est de 4,23 µg.

Il ne semble pas exister de données sur la concentration du NTA dans les aliments ou dans l'air ambiant. Cependant, il est peu probable qu'il y ait bioconcentration de NTA dans les tissus d'animaux comestibles en raison de la structure de ce composé et de sa biodégradation rapide. Dans le cas de la très faible proportion des familles qui lavent la vaisselle avec du détergent à lessive contenant du NTA, les résidus sur la vaisselle non rincée et séchée par égouttement peuvent constituer une source d'exposition. Nixon *et al.*²² ont estimé, à partir de suppositions qu'ils trouvent exagérées, que l'apport maximal provenant de cette source serait de 0,039 mg/kg p.c. par jour (ou 2,73 mg/jour pour un adulte de 70 kg); à leur avis, une valeur d'environ 0,0025 mg/kg p.c. par jour (ou 0,175 mg/jour pour un adulte de 70 kg) serait plus réaliste.

Si l'on suppose que l'eau potable constitue la principale source d'exposition au NTA, l'apport quotidien moyen de NTA serait vraisemblablement inférieur à 6 µg, dont la plus grande partie sous forme de complexes métalliques.

Méthodes d'analyse et techniques de traitement

On peut déterminer la concentration du NTA dans l'eau par chromatographie en phase gazeuse avec un détecteur spécifique de l'azote. Cette méthode permet de détecter des concentrations aussi faibles que 0,0002 mg/L.²⁰ Parmi les autres méthodes que l'on peut utiliser pour la détermination du NTA dans l'eau

figurent la polarographie, la colorimétrie et la chromatographie gazeuse avec détection par ionisation de flamme.⁴

Anderson *et al.*⁴ ont présenté un résumé des données sur l'élimination du NTA dans les réseaux municipaux de distribution d'eau. Une chloration avec 10 à 15 ppm de chlore permet d'éliminer de 10 à 90 pour cent du NTA selon le pH de l'eau, sa teneur en métaux, le temps de contact, la concentration d'ammoniac et la concentration de NTA. L'ozonisation, avec les concentrations d'ozone typiquement utilisées dans les usines de traitement des eaux, peut réduire des concentrations de NTA de 35 à 350 µg/L de plus de 80 pour cent en cinq minutes. Le charbon actif n'élimine qu'un très faible pourcentage de NTA dans l'eau étant donné que la plus grande partie du NTA est complexée avec des métaux; par exemple, l'élimination moyenne du NTA à une concentration initiale de 200 µg/L est de 12 pour cent. Anderson *et al.*⁴ ont également signalé que l'alimentation artificielle de la nappe souterraine permettait d'éliminer efficacement le NTA dans les réseaux de distribution d'eau, mais ils n'ont pas fourni de données à l'appui de cette affirmation.

Au cours d'une enquête nationale effectuée au Canada, on a étudié l'efficacité de l'élimination de concentrations de NTA supérieures à 10 µg/L. L'élimination était essentiellement totale dans une usine où la désinfection par le chlore a été suivie par une oxydation par le permanganate de potassium; la chloration et la chloration combinée à l'ozonisation ont été moins efficaces.²⁰

Effets sur la santé

Le NTA peut être avantageux pour le développement néonatal parce qu'il accroît la biodisponibilité d'éléments essentiels. La teneur en fer et en cuivre du lait de rates en lactation à qui l'on a administré des suppléments de chélates de fer–NTA et de cuivre–NTA par l'intermédiaire de l'eau potable était plus élevée comparativement aux témoins, et il en était de même de la teneur en fer et en cuivre dans les tissus des petits allaités. L'administration de chélate de Zn–NTA ou de NTA seul à des rates en lactation n'a pas eu d'effets sur la teneur en métal du lait ou des tissus.²³

La cinétique et le métabolisme du NTA ont été étudiés chez plusieurs espèces, dont l'être humain.²⁴⁻²⁷ L'absorption du NTA à partir du tube digestif est rapide; cependant, la proportion de NTA éliminée dans l'urine varie considérablement selon l'espèce. Chez le rat, la souris et le chien, l'élimination se fait principalement par l'intermédiaire de l'urine (respectivement de 70 à 95 pour cent, 96 pour cent et de 69 à 80 pour cent de la dose administrée par voie orale),²⁴⁻²⁶ tandis que chez le lapin, le singe et l'être humain, la plus grande partie du NTA est éliminée dans les fèces, l'élimination dans

l'urine étant, par conséquent, beaucoup plus faible (23 pour cent, ¹⁴ pour cent et 12 pour cent respectivement).^{24,27} Chez huit volontaires humains, la concentration sanguine de NTA a atteint sa valeur maximale en une à deux heures après l'administration de 10 mg de ¹⁴C-NTA incorporé dans des gélules. Les fèces contenaient 77 pour cent de la dose administrée, l'urine en contenait environ 12 pour cent sous forme de NTA inchangé et moins de 0,1 pour cent de la dose a été exhalée sous forme de CO₂. On a constaté que 87 pour cent de la quantité absorbée (c.-à-d. de 12 à 13 pour cent de la dose totale) a été excrétée dans l'urine en l'espace de 24 heures.²⁷ D'après des études effectuées chez la souris, le rat, le chien et l'être humain, toutes des espèces chez lesquelles le NTA est excrété tel quel dans l'urine, il ne semble pas que le NTA soit métabolisé chez les mammifères.²⁴⁻²⁷

Le NTA s'accumule dans les os du fait qu'il forme des complexes avec des cations divalents comme le calcium; son temps de renouvellement dans les os est semblable à celui du calcium. Le NTA s'accumule également dans le rein; cependant, on a laissé entendre qu'il pourrait s'agir d'un artefact lié à la rétention de l'urine dans le rein et non d'une absorption véritable du NTA par les tissus rénaux.⁴ Chez des chiens exposés par intubation orale à une dose de NTA de 20 mg/kg p.c., c'est dans les os que la concentration de NTA était la plus élevée (de 2 à 3 µg/g) 72 heures après l'administration; suivaient les reins avec une concentration de 0,43 µg/g. La concentration de NTA dans le sang est passée d'une valeur maximale de 16 µg/g 75 minutes après l'administration à 0,02 µg/g après 72 heures.²⁷ L'accumulation du NTA dans les os et les reins a été signalée chez d'autres espèces d'animaux d'expérience; toutefois, les concentrations ont diminué rapidement.²⁵⁻²⁷ Après l'administration par voie orale d'une dose unique de 10 mg, la concentration de NTA dans le tibia des rats traités a chuté de 29 µg/g d'os après une heure à 5 µg/g d'os après 48 heures.²⁴

Il existe peu d'information sur la toxicité du NTA pour l'être humain. D'après l'examen physique et les analyses de sang et d'urine réalisés dans le cadre d'une étude du métabolisme au cours de laquelle des volontaires ont ingéré une dose unique de 10 mg de NTA, ce dernier n'aurait pas d'effets nocifs sur la santé.²⁷

Le NTA ne semble pas être hautement toxique par suite d'une exposition aiguë chez les mammifères. On a signalé des DL₅₀ par voie orale de 1 470 et 3 160 mg/kg p.c. respectivement chez le rat et la souris.²⁸ La DL₅₀ par voie orale du Na₃NTA.H₂O chez les rongeurs est d'environ 2 000 mg/kg p.c.⁴ La DL₅₀ par voie orale des complexes métalliques du NTA couramment rencontrés dans l'eau potable varie, chez le rat, entre 810 mg/kg p.c. pour le CuNaNTA à >22 500 mg/kg p.c. pour le NiNaNTA.⁴

Les résultats des études subchroniques dans lesquelles le NTA a été administré oralement indiquent que le rein est l'organe cible, que les lésions se produisent rapidement et qu'elles sont fonction de la dose. Dans une étude réalisée chez des rats mâles Sprague-Dawley (neuf par groupe) exposés à de l'eau potable contenant 0,01, 0,1 ou 1 pour cent de Na₃NTA (l'équivalent de 7, 70 ou 700 mg de NTA/kg p.c. par jour)* pendant 10 semaines, six des neuf animaux faisant partie du groupe exposé à la dose élevée sont morts au cours de la quatrième semaine, les autres semblaient moribonds et ont été sacrifiés. Les animaux de ce groupe accusaient une vacuolisation marquée des tubules rénaux; on a également observé de la glucosurie chez cinq des sept rats examinés à cet égard. La glycémie était élevée, de manière statistiquement significative, à toutes les concentrations. Cet effet hypoglycémiant du Na₃NTA a été confirmé par une étude dans laquelle des groupes de 25 rats mâles d'une autre souche de rat (rats Charles River CD) ont consommé de l'eau potable contenant 0,01, 0,05 ou 0,1 pour cent de Na₃NTA (7, 35 ou 70 mg/kg p.c. par jour de NTA) pendant dix semaines. Une augmentation significative de la glycémie a été observée dans les deux groupes exposés aux doses les plus élevées; il y avait également une augmentation de la glycémie dans le premier groupe (0,01 pour cent), mais elle n'était pas statistiquement significative. Le degré d'hyperglycémie variait considérablement entre les animaux. Les auteurs ont formulé l'hypothèse que l'hyperglycémie pourrait être liée à une diminution de la disponibilité des métaux essentiels comme co-facteurs de l'insuline.²⁹

Dans une étude restreinte dans laquelle deux chiens dont le développement squelettique était arrivé à maturité ont été exposés à 2,5 mg/kg p.c. de Na₃NTA dans l'eau potable pendant sept mois, on a constaté une diminution du taux d'ossification radiale et du taux de lisérés ostéoïdes acceptant un marqueur fluorescent, ce qui indiquerait une perturbation du processus de minéralisation.³⁰ Il a été conclu qu'une concentration de 8 µg de NTA/g d'os n'aurait probablement pas d'effet démontrable sur le développement osseux du fait que des calculs réalisés à partir de données expérimentales

* À moins qu'elles ne soient indiquées dans la référence citée, la conversion des doses est fondée sur l'hypothèse que dans le cas d'un rat de 0,25 kg, une dose de 1 mg/kg ingérée dans les aliments et 1 mg/L dans l'eau correspond à 0,6 et 0,1 mg/kg p.c. par jour, respectivement, et, dans le cas d'une souris de 0,025 kg, à 0,12 et 0,2 mg/kg p.c. par jour, respectivement.²⁸ Une dose de 1,0 mg/kg p.c. par jour de Na₃NTA.H₂O est considérée comme étant équivalente à 0,7 mg de NTA/kg p.c. par jour, si l'on se fonde sur les poids moléculaires de 191 et 275 g respectivement pour le NTA et le Na₃NTA.H₂O.

indiquent que la quantité de calcium combinée avec le NTA dans les os à cette concentration ne représente qu'une petite fraction (0,007 pour cent) du renouvellement total du calcium en 24 heures.²⁴

Dans un dosage biologique subchronique dans lequel des groupes de rats Sprague-Dawley sevrés (10 mâles et 10 femelles par groupe) ont reçu par voie alimentaire des concentrations de 0, 2 000, 7 500, 10 000 ou 20 000 ppm de Na₃NTA (84, 315, 420 ou 840 mg/kg p.c. par jour de NTA) pendant 90 jours, on a observé de l'hydronephrose chez 63 pour cent des animaux appartenant au groupe exposé à la dose élevée. Une dégénérescence hydropique légère des cellules des tubules rénaux a été signalée chez quatre des dix mâles faisant partie du groupe exposé à 7 500 ppm; deux autres mâles de ce groupe ont présenté une atrophie et une dilatation des tubules. Les rats exposés à 10 000 ppm de Na₃NTA ont manifesté des modifications rénales semblables mais plus poussées. On n'a pas observé d'effets nocifs à la concentration de 2 000 ppm.³¹

La toxicité chronique et la tumorigénicité du NTA administré par voie orale ont fait l'objet de sept dosages biologiques chez le rat et la souris. Dans la plus ancienne de ces études, des groupes de rats Charles River CD sevrés (50 rats de chacun des deux sexes par groupe) ont été exposés par l'intermédiaire de leur alimentation à 0,03, 0,15 ou 0,5 pour cent de Na₃NTA ou à 0,5 pour cent de chélate de calcium-NTA pendant deux ans; des animaux ont été sacrifiés après six, douze, 18 et 24 mois. Une augmentation significative du zinc urinaire a été signalée chez les rats exposés à 0,15 et 0,5 pour cent de Na₃NTA et à 0,5 pour cent de chélate de calcium-NTA. Cette augmentation liée à la dose du zinc urinaire s'accompagnait d'une augmentation liée à la dose de la toxicité pour les cellules des tubules rénaux. Une légère néphrose consistant en une dégénérescence hydropique des cellules tubulaires et du tubule mineur a été observée à six mois à 0,15 et 0,5 pour cent de Na₃NTA; la fréquence et la gravité de cette manifestation augmentaient avec la durée de l'étude. Les effets des concentrations de 0,5 pour cent de Na₃NTA et de 0,5 pour cent de chélate de calcium-NTA étaient prononcés. La dose sans effet nocif observé (DSENO) dans le cas de la néphrose ou de la néphrite chez le rat a été considérée comme étant de 0,03 pour cent de Na₃NTA, que les auteurs ont affirmé être l'équivalent de 30 mg/kg p.c. par jour chez les jeunes rats et de 15 mg/kg p.c. par jour chez les rats plus âgés (ou 20 et 10 mg/kg p.c. par jour de NTA respectivement). On n'a pas observé d'augmentation statistiquement significative de l'incidence des tumeurs dans l'un ou l'autre des différents groupes.²²

Greenblatt et Lijinsky³² ont réalisé une étude dans laquelle des groupes d'environ 80 souris suisses ont été abreuvées avec de l'eau potable contenant 5 g/L de NTA ou 5 g de NTA + 1 g/L de NaNO₂ pendant 26 semaines. Les souris ont été sacrifiées après 37 ou 38 semaines. Les auteurs ont constaté une augmentation du nombre d'adénomes pulmonaires dans le groupe exposé au NTA et au NaNO₂ en combinaison; cette augmentation n'était pas statistiquement significative lorsque les sexes étaient considérés séparément. Ils ont conclu qu'aucun des composés, seul ou en combinaison, n'était cancérigène chez la souris. Une étude semblable réalisée chez des groupes de rats MRC comportant quinze mâles et quinze femelles exposés pendant 84 semaines et sacrifiés après 104 semaines n'a révélé aucun signe de cancérigénicité ou d'un autre effet toxique du NTA.³³ Cependant, les périodes d'exposition et d'observation chez la souris ont été courtes et seul un petit nombre d'animaux ont été exposés dans l'étude effectuée chez le rat.

Le National Cancer Institute (NCI) a évalué les résultats des études de cancérigénicité réalisées sur le NTA dans deux laboratoires.³⁴ L'analyse statistique des résultats de ces deux dosages biologiques était incomplète; cependant, là où l'analyse le permet, la signification des effets observés est précisée. Dans la première expérience, des groupes de rats Fischer 344 consanguins comportant 24 mâles et 24 femelles ont été exposés par voie alimentaire à des concentrations de 200, 2 000 ou 20 000 ppm de Na₃NTA.H₂O (8,4, 84 ou 840 mg/kg p.c. par jour de NTA) pendant deux ans. Une diminution du poids corporel de 10 à 12 pour cent a été observée dans le groupe exposé à la dose élevée; de plus, la survie a diminué de manière significative chez les mâles exposés à la dose la plus élevée. Une hypertrophie ou une solidification des reins ont été constatés chez 59 pour cent des mâles et 9 pour cent des femelles de ce groupe entre la 60^e et la 64^e semaine. Une augmentation statistiquement significative des néoplasmes primaires des voies urinaires a été signalée chez les mâles et les femelles dans le groupe exposé à la dose élevée (incidence de 58 et 54 pour cent respectivement). Parmi les tumeurs relevées figuraient des carcinomes des cellules transitionnelles, des carcinomes des cellules atubulaires et des adénomes des cellules tubulaires dans les reins, ainsi que les carcinomes des cellules transitionnelles dans l'uretère et dans la vessie. Cinq mâles et cinq femelles faisant partie du groupe exposé à la dose élevée (c.-à-d. 21 pour cent pour l'un et l'autre sexe) ont présenté des carcinomes des cellules transitionnelles métastatiques qui apparaissaient le plus souvent dans les poumons et souvent dans les ganglions lymphatiques, le pancréas, les surrénales et les vésicules séminales. La plupart des rats des deux sexes faisant partie du groupe exposé à la dose élevée (le nombre

exact n'était pas précisé) présentaient une néphrite ou une hydronéphrose variant de modérée à grave. Dans cette étude, la dose sans effet nocif observé (DSENO) est considérée comme étant 2 000 ppm de $\text{Na}_3\text{NTA}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (84 mg/kg p.c. par jour de NTA).

La deuxième étude portait à la fois sur des rats Fischer 344 et des souris B6C3F₁ (50 animaux de chaque sexe pour les groupes traités et 20 pour les groupes témoins). Les rats ont été exposés par voie alimentaire à 7 500 ou 15 000 ppm de H_3NTA (450 ou 900 mg/kg p.c. par jour) ou de $\text{Na}_3\text{NTA}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (315 ou 630 mg/kg p.c. par jour de NTA) pendant 18 mois, avant d'être soumis au régime alimentaire témoin pendant six mois. Les souris, quant à elles, ont été exposées par la même voie à 7 500 ou 15 000 ppm de H_3NTA (900 ou 1 800 mg/kg p.c. par jour) ou à 2 500 ou 5 000 ppm de $\text{Na}_3\text{NTA}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (210 ou 420 mg/kg p.c. par jour de NTA) pendant 18 mois, avant d'être elles aussi soumises au régime alimentaire témoin pendant trois mois. Les animaux ont été sacrifiés à la fin de la période d'exposition au régime alimentaire témoin.

Le poids corporel des rats a diminué en fonction de la dose dans le cas des deux composés. Chez les rats exposés à la dose élevée (15 000 ppm) de H_3NTA , on a constaté une augmentation significative de l'incidence d'une variété de lésions néoplasiques dans les voies urinaires comparativement au groupe témoin (15 et 28 pour cent chez les mâles et les femelles respectivement, contre 0 pour cent chez les témoins des deux sexes). Il y avait également une augmentation, non significative, de l'incidence de ces mêmes lésions dans le groupe exposé à la dose faible (7 500 ppm) de H_3NTA (2 et 4 pour cent chez les mâles et les femelles respectivement, contre 0 pour cent chez les témoins).

Une légère augmentation de l'incidence des néoplasmes du système urinaire a été observée chez les rats exposés à 7 500 ppm de sel trisodique (8 pour cent chez les mâles et les femelles) et à 15 000 ppm (4 pour cent chez les mâles et les femelles) comparativement aux témoins (0 pour cent). La plupart des tumeurs étaient d'origine épithéliale primaire et comprenaient, chez les mâles, des adénomes et adénocarcinomes des cellules tubulaires du rein et des papillomes de l'uretère et, chez les femelles, des carcinomes des cellules transitionnelles de la vessie. Ces tumeurs étaient totalement absentes chez les animaux témoins et l'apparition spontanée de ces tumeurs dans la souche utilisée pour l'étude est peu fréquente. Les auteurs ont également signalé l'existence d'une relation dose-effet positive dans le cas des tumeurs du système endocrinien, bien que l'incidence de ces tumeurs ait été de 10, 32 et 16 pour cent (mâles) et de 30, 26 et 50 pour cent (femelles) chez les témoins, le groupe exposé à la dose faible et le groupe exposé à la dose élevée, respectivement. L'hyperplasie et l'inflammation des voies urinaires étaient plus fréquentes chez

les animaux traités que chez les témoins. On a également signalé une augmentation liée à la dose de l'incidence des nodules néoplasiques dans le foie des rates exposées au H_3NTA . Tous les animaux traités avec le sel sodique présentaient une néphrite dont la gravité variait de modérée à élevée; la néphrite était moins grave et moins fréquente chez les témoins.

Chez les souris mâles exposées à la dose de H_3NTA la plus élevée et chez les souris femelles exposées aux deux doses, le poids corporel moyen a diminué (degré de signification non précisé) comparativement aux témoins. Le poids corporel moyen des souris mâles et femelles exposées au $\text{Na}_3\text{NTA}\cdot\text{H}_2\text{O}$ a diminué, la diminution étant fonction de la dose d'exposition. On a observé une augmentation statistiquement significative des tumeurs rénales, surtout des adénocarcinomes des cellules tubulaires chez les mâles exposés à raison de 15 000 ppm de H_3NTA (52 pour cent comparativement à 0 pour cent chez les témoins). Huit pour cent des femelles exposées à la dose élevée et 10 pour cent des mâles exposés à la dose de 7 500 ppm de H_3NTA ont également présenté des tumeurs rénales. La seule augmentation statistiquement significative de l'incidence des tumeurs chez les souris exposées au $\text{Na}_3\text{NTA}\cdot\text{H}_2\text{O}$ a été une augmentation liée à la dose de l'incidence des tumeurs du système hématopoïétique chez les mâles (0, 8 et 18 pour cent respectivement chez les groupes exposés à 0, 2 500 et 5 000 ppm). L'hydronéphrose a été observée chez les groupes de souris exposées à la dose élevée dans le cas des deux composés (15 000 ppm de H_3NTA ou 5 000 ppm de $\text{Na}_3\text{NTA}\cdot\text{H}_2\text{O}$) et chez les souris mâles exposées à 7 500 ppm de H_3NTA ; l'hydronéphrose n'a pas été constatée chez les témoins.

Il n'est pas possible d'établir une DSENO ni la plus faible dose avec effet nocif observé (PFDENO) à partir des données présentées pour la seconde étude traitée dans le rapport du NCI en raison de l'insuffisance de l'analyse statistique des résultats.

Des rats albinos mâles Sprague-Dawley de deux âges différents (poids corporels de 70 et 350 g au début de l'expérience) ont reçu de l'eau potable contenant 1 000 ppm de Na_3NTA (70 mg/kg p.c. par jour de NTA) pendant deux ans. À la fin de l'étude, il y avait au total 186 rats dans le groupe témoin et 183 rats dans le groupe expérimental. La mortalité a été significativement plus élevée chez les rats exposés au cours des 550 premiers jours de la période d'étude (19,7 pour cent comparativement à 11,2 pour cent chez les témoins). L'incidence des tumeurs rénales, comprenant des adénomes et des adénocarcinomes, a augmenté de manière significative chez les animaux exposés (15,8 pour cent comparativement à 2,7 pour cent). Des animaux qui ont survécu à la période d'étude (aussi bien des animaux témoins que des animaux traités), 85 pour

cent présentait une néphrite ou une hyperplasie des tubules rénaux, à un degré quelconque. L'incidence et la gravité de la néphrite n'ont pas paru liées à l'exposition au NTA, tandis que les cas d'hyperplasie les plus graves ont été observés le plus souvent chez les animaux traités.³⁵

À partir d'études^{4,36-38} réalisées chez les animaux sur l'histogenèse des néoplasmes des cellules tubulaires rénales liés à l'ingestion de doses élevées de NTA, Anderson *et al.*⁴ ont proposé le mécanisme suivant pour expliquer l'induction de ces tumeurs. Le marqueur initial et persistant de la toxicité induite par le NTA pour les cellules des tubules rénaux est la formation de vacuoles cytoplasmiques dans l'épithélium du tube contourné proximal. Si l'exposition se poursuit, ces vacuoles subissent une série de modifications hyperplasiques de gravité croissante qui dépendent du temps et de la dose et qui aboutissent à la néoplasie.^{38,39} La vacuolisation seule ne suffit pas pour induire l'hyperplasie étant donné que la vacuolisation étendue provoquée par l'administration répétée de saccharose par voie intrapéritonéale n'évolue pas vers l'hyperplasie.⁴ Cependant, en même temps que la progression de la vacuolisation, il y a exacerbation par le NTA de la néphrose et de la néphrite spontanées qui sont caractéristiques chez le rat vieillissant et, si l'exposition se poursuit, une petite proportion des reins lésés peuvent donner lieu à des adénomes ou à des adénocarcinomes des cellules des tubules rénaux. Les lésions semblent réversibles avant qu'elles n'atteignent les stades d'hyperplasie et de néoplasie adénomateuses.⁴⁰

Chez des rats mâles Sprague-Dawley, la vacuolisation est observée à la suite de l'administration par gavage (dans de l'eau) de doses uniques de 0,11 mmol/kg p.c. de NTA (21 mg/kg p.c.), mais non à 0,073 mmol/kg p.c. (14 mg/kg p.c.). Les vacuoles apparaissent en l'espace de 1,5 à six heures après l'administration d'une dose unique de 7,3 mmol/kg p.c. de NTA (1 400 mg/kg p.c.) par gavage (dans de l'eau) et peuvent persister pendant une période allant jusqu'à 72 heures.⁴¹

La toxicité rénale du NTA qui est vue comme un précurseur nécessaire à l'apparition des néoplasmes des cellules des tubules rénaux a été attribuée à des perturbations de la distribution des ions divalents (surtout zinc et calcium) dans les voies urinaires durant l'excrétion urinaire. On a constaté une augmentation de la concentration de zinc et de calcium urinaire et une diminution de la concentration de magnésium urinaire chez des rats Charles River mâles sevrés ayant reçu par voie alimentaire 2 pour cent de Na₃NTA.H₂O (840 mg/kg p.c. par jour de NTA) ou 1,5 pour cent de H₃NTA (630 mg/kg p.c. par jour) pendant cinq semaines; à l'opposé, on a observé dans les fèces une diminution du zinc et une augmentation du

magnésium. L'élimination du manganèse, du fer ou du cuivre n'est pas modifiée, de manière mesurable, par les doses élevées de NTA.⁴² On croit que la toxicité pour les cellules des tubules rénaux dépend d'une augmentation de la réabsorption du zinc à partir de l'ultrafiltrat plasmatique par les cellules tubulaires.³⁸

Les tumeurs des cellules épithéliales transitionnelles ne surviennent qu'à des doses de NTA supérieures à celles qui induisent les tumeurs des cellules des tubules rénaux. Anderson *et al.* ont observé que seules les doses de NTA qui augmentent le calcium urinaire sont liées aux tumeurs des cellules épithéliales transitionnelles (c.-à-d. $\geq 1,4$ mmol/kg p.c. par jour ou 267,4 mg/kg p.c. par jour).⁴ On a formulé l'hypothèse qu'à des concentrations de NTA dans l'urine qui dépassent la concentration totale des métaux divalents, le NTA non complexé extrait du calcium extracellulaire des cellules épithéliales transitionnelles dans les voies urinaires plus rapidement qu'il n'est remplacé.⁴ L'extraction du calcium extracellulaire réduit l'adhésion entre les cellules, ce qui entraîne une érosion de la surface cellulaire qui peut fournir un stimulus mitotique inordonné et soutenu, lequel peut être à l'origine de la formation néoplasique si l'exposition se poursuit.⁴ On pense que la réduction du calcium extracellulaire est un facteur important dans la formation des métastases.⁴³

On a étudié les effets du zinc sur la toxicité du NTA pour les cellules des tubules rénaux. Des rats de lignée indéterminée ont été exposés pendant quatre semaines à une concentration néphrotoxique constante de NTA (dose réelle non précisée) par voie alimentaire et à l'une des quatre concentrations de zinc suivantes (toujours par voie alimentaire) : 8, 14, 21 et 52 ppm, soit l'équivalent de 0,48, 0,84, 1,26 et 3,12 mg/kg p.c. par jour). On a observé une augmentation liée à la dose de l'incidence des lésions graves (vacuoles avec hyperplasie nodulaire) chez les rats exposés aux deux doses de zinc les plus élevées (21 et 52 ppm) plus le NTA, tandis que les doses plus faibles de zinc plus le NTA n'ont donné lieu qu'à des vacuoles sans hyperplasie et deux sites d'hyperplasie simple dans les quatorze reins ayant fait l'objet d'un examen.³⁸ L'étendue de la vacuolisation des cellules des tubules rénaux chez des rats (lignée non précisée) induite par une dose de 7,3 mmol/kg p.c. de NTA (1 400 mg/kg p.c.) administrée par gavage (véhicule non précisé) a augmenté après la perfusion des cellules avec une solution contenant 0,3 mmol/kg p.c. de ZnSO₄ (57 mg/kg p.c.) comparativement à celle qui a été induite par la même dose de NTA suivie d'une perfusion avec un soluté physiologique. Par contre, on n'a pas observé de vacuolisation à une dose plus faible, non toxique, de NTA (0,073 mmol/kg p.c. ou 14 mg/kg p.c.) suivie d'une perfusion de ZnSO₄. Par conséquent, si la disponibilité du zinc dans le plasma semble influencer

sur l'étendue de la vacuolisation, une augmentation de la disponibilité du zinc ne semble pas modifier la dose seuil à laquelle le NTA provoque la vacuolisation.⁴

Des doses élevées de NTA dans l'alimentation (c.-à-d. 10 000 ppm de $\text{Na}_3\text{NTA}\cdot\text{H}_2\text{O}$ ou 420 mg/kg p.c. par jour de NTA) ont induit des tumeurs des cellules des tubules rénaux chez 100 pour cent des rats «W» antérieurement exposés à 1 000 ppm de N-éthyl-N-hydroxyéthylnitrosamine (EHEN) comparativement à une incidence de 39 pour cent avec la dose de 500 ppm (21 mg/kg p.c. par jour de NTA) et de 33 pour cent avec le régime alimentaire témoin ne contenant que de l'EHEN. On a noté la présence d'une hyperplasie des cellules transitionnelles chez tous les rats exposés à la dose élevée de $\text{Na}_3\text{NTA}\cdot\text{H}_2\text{O}$, mais on n'a pas décelé de tumeurs des cellules transitionnelles.⁴⁴ Les doses de $\text{Na}_3\text{NTA}\cdot\text{H}_2\text{O}$ qui ont induit une hyperplasie simple de l'épithélium de la vessie ont entraîné une augmentation liée à la dose de la cancérogenèse de la vessie initiée par la N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) chez des rats Wistar.⁴⁵ De la même manière, le $\text{Na}_3\text{NTA}\cdot\text{H}_2\text{O}$ a amplifié la cancérogenèse de la vessie (initiation à la BBN) chez des rats Fischer 344.⁴⁶ Le $\text{Na}_3\text{NTA}\cdot\text{H}_2\text{O}$ a augmenté significativement l'incidence des lésions néoplasiques et pré-néoplasiques urinaires (initiation par le N-bis(2-hydroxypropyl)-nitrosamine (DHPN), tandis que le H_3NTA n'a entraîné qu'une faible augmentation, non significative. Le traitement par le $\text{Na}_3\text{NTA}\cdot\text{H}_2\text{O}$ a également augmenté le pH et la teneur en sodium de l'urine. Le traitement simultané avec du NH_4Cl a réduit l'activité stimulatrice des deux composés, de même que le pH et la teneur en sodium de l'urine.⁴⁷

La mutagénicité et le pouvoir clastogène du NTA ont été étudiés *in vivo* et *in vitro*.⁴⁸⁻⁵⁸ À l'exception de plusieurs études dans lesquelles on a eu recours à une exposition à dose élevée ou à une exposition prolongée (la concentration de NTA dépassant celle des cations bivalents dans le milieu), les résultats des tests réalisés jusqu'à présent se sont révélés négatifs dans une grande mesure, et on a conclu que le NTA n'est pas génotoxique.^{1,4} Le NTA accroît la solubilisation de certains complexes métalliques peu solubles et augmente ainsi la disponibilité intracellulaire de complexes qui peuvent être mutagènes. Il augmente l'induction des échanges de chromatides soeurs dans les cellules de hamster chinois par des sels insolubles de certains métaux lourds^{53,59} et certains sels insolubles de chrome(VI) ne sont mutagènes dans les tests sur *Salmonella*/microsomes qu'en présence de NTA ou de NaOH.⁶⁰

Le NTA n'est pas tératogène lorsqu'il est administré seul ou en association avec les métaux lourds comme le cadmium ou le mercure. Même s'il y avait accumulation de NTA dans le squelette des foetus, on n'a pas observé d'effets tératogènes au cours d'une étude dans laquelle dix souris albinos gravides de souche NMRI ont

consommé de l'eau contenant 2 pour cent de NTA (400 mg/kg p.c. par jour) pendant les jours six à 18 de la gestation.⁶¹ Le Na_3NTA ne s'est révélé ni tératogène ni embryotoxique dans une étude de deux générations réalisée chez des rats Charles River CD dont l'alimentation contenait 0,1 ou 0,5 pour cent de Na_3NTA (70 ou 350 mg/kg p.c. par jour de NTA) ni chez des rates gravides exposées au même régime alimentaire durant l'organogenèse.⁶² De la même manière, on n'a pas observé d'effets tératogènes ou embryotoxiques chez des lapins ayant ingéré jusqu'à 250 mg/kg p.c. par jour de Na_3NTA (175 mg/kg p.c. par jour de NTA) durant l'organogenèse.⁶² Le NTA n'augmente pas la tératogénicité du cadmium ou du méthyl-mercure lorsqu'il est administré en même temps que ces derniers à des rats par l'intermédiaire de l'eau potable.^{63,64}

Classification et évaluation

L'absorption de l'acide nitrilotriacétique (NTA) est beaucoup plus faible chez les humains que chez les animaux d'expérience et le NTA ne semble pas être métabolisé dans les systèmes mammaliens. Il n'est ni tératogène ni génotoxique d'après les études réalisées à ce jour, mais à doses élevées, il a induit des tumeurs des voies urinaires chez le rat et la souris. On considère que l'induction des tumeurs est imputable à la toxicité résultant de la chélation des cations bivalents tels le zinc et le calcium dans les voies urinaires, phénomène à l'origine de l'apparition de l'hyperplasie et de la néoplasie. Règle générale, les néoplasmes ne sont apparus qu'à la suite de l'ingestion chronique de NTA à des concentrations supérieures à 0,5 mmol/kg p.c. par jour (100 mg/kg p.c. par jour), tandis que la néphrotoxicité s'est manifestée à des concentrations plus faibles, se situant entre 0,05 mmol/kg p.c. par jour (10 mg/kg p.c. par jour) et 0,3 mmol/kg p.c. par jour (60 mg/kg p.c. par jour).⁴

Étant donné que le NTA n'induit des tumeurs qu'à des doses supérieures aux doses néphrotoxiques, il est classé dans le groupe IIIB (possiblement cancérogène pour l'homme) et l'apport quotidien acceptable (AQA) est calculé en divisant la PFDENO ou la DSENO pour ce qui est des effets néphrotoxiques, par un facteur d'incertitude plus grand pour tenir compte de la preuve d'induction des tumeurs des voies urinaires à des doses élevées.

La plus faible DSENO pour les effets néphrotoxiques a été obtenue dans l'étude d'une durée de deux ans réalisée chez le rat par Nixon *et al.*²² au cours de laquelle on a constaté une augmentation de l'incidence de néphrite et de néphrose chez des rats dont le régime alimentaire renfermait 0,15 pour cent de Na_3NTA mais non 0,03 pour cent de Na_3NTA (ou 10 mg/kg p.c. par jour de NTA). Une étude subchronique nous indique que des concentrations semblables de NTA ont induit

une hyperglycémie chez le rat.²⁹ D'après cette DSENO de 10 mg/kg p.c. par jour, l'AQA de NTA dans l'eau potable est calculé comme suit :

$$\text{AQA} = \frac{10 \text{ mg/kg p.c. par jour}}{1000} = 0,01 \text{ mg/kg p.c. par jour}$$

où :

- 10 mg/kg p.c. par jour est la plus faible DSENO pour les effets néphrotoxiques chez le rat²²
- 1 000 est le facteur d'incertitude (multiplié par 10 pour la variation interspécifique, multiplié par 10 pour la variation intraspécifique, multiplié par 10 pour la cancérogénicité à doses élevées).

Il faut noter que cet AQA est probablement prudent, étant donné que le NTA fait l'objet d'une plus grande absorption chez le rat que chez l'être humain.

D'après cette valeur de l'AQA, la concentration maximale acceptable (CMA) de NTA dans l'eau potable est calculée comme suit :

$$\text{CMA} = \frac{0,01 \text{ mg/kg p.c. par jour} \times 70 \text{ kg p.c.} \times 0,80}{1,5 \text{ L/jour}} \approx 0,4 \text{ mg/L}$$

où :

- 0,01 mg/kg p.c. par jour est l'AQA, tel que calculé ci-dessus
- 70 kg est le poids corporel moyen d'un adulte
- 0,80 est la proportion de l'apport quotidien de NTA qui est attribuée à l'eau potable (il existe peu de données sur les concentrations de NTA dans les aliments; cependant, on s'attend que l'apport provienne principalement de l'eau potable)
- 1,5 L/jour est la consommation moyenne quotidienne d'eau potable d'un adulte.

En raison de la dégradation rapide du NTA dans l'environnement et de la nature non usuelle des méthodes d'analyse existant actuellement, il n'est pas nécessaire de procéder de manière régulière au dosage du NTA dans les réseaux de distribution d'eau potable, à moins d'avoir des raisons suffisantes d'en soupçonner la présence dans la source d'approvisionnement à des concentrations qui se rapprochent de la CMA.

Références bibliographiques

1. International Joint Commission. A report to the Great Lakes Research Advisory Board on the health implications of NTA (1977).
2. Kaur, G., Hasan, S.K. et Srivastava, R.C. Effect of nitrilotriacetic acid (NTA) on the distribution of manganese-54 in rats. *Arch. Toxicol.*, 45: 203 (1980).
3. Pollack, S. et Ruocco, S. Synergistic effect of nitrilotriacetate on iron mobilization by desferrioxamine *in vivo*. *Blood*, 57(6): 1117 (1981).
4. Anderson, R.L., Bishop, W.E. et Campbell, R.L. A review of the environmental and mammalian toxicology of nitrilotriacetic acid. *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, 15(1): 1 (1985).
5. Cripps, R.E. et Noble, A.S. Metabolism of nitrilotriacetate by a pseudomonad. *Biochem. J.*, 136: 1059 (1973).
6. Tiedje, J.M., Mason, B.B., Warren, C.B. et Malec, E.J. Metabolism of nitrilotriacetate by cells of *Pseudomonas* species. *Appl. Microbiol.*, 25: 811 (1973).

7. Firestone, M.K. et Tiedje, J.M. Pathway of degradation of nitrilotriacetate by a *Pseudomonas* species. *Appl. Environ. Microbiol.*, 35: 955 (1978).
8. Larson, R.J. et Davidson, D.H. Acclimation to and biodegradation of nitrilotriacetate (NTA) at trace concentrations in natural waters. *Water Res.*, 16: 1597 (1982).
9. Pfeil, B.H. et Lec, G.F. Biodegradation of NTA in aerobic systems. *Environ. Sci. Technol.*, 2: 543 (1968).
10. Eden, G.E., Culley, G.E. et Rootham, R.C. Effect of temperature on the removal of NTA (nitrilotriacetic acid) during sewage treatment. *Water Res.*, 6: 877 (1972).
11. Rudd, W.M., Townsend, B.E. et Hamilton, R.D. Discharge of nitrilotriacetate (NTA) from two sewage treatment facilities in a mid-continental climate. *J. Fish. Res. Board Can.*, 30: 1062 (1973).
12. Larson, R.J., Clinckemaulle, G.G. et Van Belle, L. Effect of temperature and dissolved oxygen on biodegradation of nitrilotriacetate. *Water Res.*, 15(5): 615 (1981).
13. Shannon, E.E., Fowle, P.J.A. et Rush, R.J. A study of nitrilotriacetic acid (NTA) degradation in a receiving stream. *Technol. Dev. Rep. No. EPS-4-WP-74-7*, Manuel pratique sur la production d'eau potable. Service de la protection de l'environnement, Environnement Canada, Ottawa (1974).
14. Bjorndal, H., Bouveng, H.O., Solyom, P. et Werner, J. NTA in sewage treatment—3. *Vatten*, 28: 5 (1972).
15. Ventullo, R.M. et Larson, R.J. Metabolic diversity and activity of heterotrophic bacteria in ground water. *Environ. Toxicol. Chem.*, 4: 759 (1985).
16. Warren, C.B. et Malec, E.J. Biodegradation of nitrilotriacetic acid and related imino and amino acids in river water. *Science*, 176: 277 (1972).
17. Thompson, J.E. et Duthie, J.R. The biodegradability and treatment of NTA. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 40: 303 (1968).
18. Chau, Y.K. et Shiomi, M.T. Complexing properties of nitrilotriacetic acid in the lake environment. *Water Air Soil Pollut.*, 1(2): 149 (1972).
19. McFuff, R.E. et Mord, F.M. *Tech. Rep. EQ-73-02*, W.M. Keck Laboratory of Environmental Science, California Institute of Technology, Pasadena, CA (1973), cité au renvoi 4.
20. Malaiyandi, M., Williams, D.T. et O'Grady, R. A national survey of nitrilotriacetic acid in Canadian drinking water. *Environ. Sci. Technol.*, 13: 59 (1979).
21. Matheson, D.H. Nitrilotriacetic acid (NTA) in the Canadian environment. *Scientific Series No. 74*, Direction générale des eaux intérieures, Direction de la qualité des eaux, Environnement Canada, Ottawa (1977).
22. Nixon, G.A., Buehler, E.V. et Niewenhuis, R.J. Two-year rat feeding study with trisodium nitrilotriacetate and its calcium chelate. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 21: 244 (1972).
23. Keen, C.L., Lonnerdal, B., Sloan, M.V. et Hurley, L.S. Effect of dietary iron, copper and zinc chelates of nitrilotriacetic acid (NTA) on trace metal concentrations in rat milk and maternal and pup tissues. *J. Nutr.*, 110: 897 (1980).
24. Michael, W.R. et Wakim, J.M. Metabolism of nitrilotriacetic acid (NTA). *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 18: 407 (1971).
25. Chu, I., Becking, G.C., Villeneuve, D.C. et Viau, A. Metabolism of nitrilotriacetic acid in the mouse. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 19: 417 (1978).

26. Budny, J.A. Metabolism and blood pressure effects of disodium nitrilotriacetate (Na_2NTA) in dogs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 22: 655 (1972).
27. Budny, J.A. et Arnold, F.D. Nitrilotriacetate (NTA): Human metabolism and its importance in the total safety program. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 25: 48 (1973).
28. NIOSH. Registry of toxic effects of chemical substances, 1983–84. Cumulative supplement to the 1981–82 edition. U.S. Department of Health and Human Services (1985).
29. Mahaffey, K.R. et Goyer, R.A. Trisodium nitrilotriacetate in drinking water. *Arch. Environ. Health*, 25: 271 (1972).
30. Anderson, C. et Danylchuk, K.D. The effect of chronic administration of trisodium nitrilotriacetate (Na_3NTA) on the Haversian remodelling system in dogs. *J. Environ. Pathol. Toxicol.*, 3: 413 (1980).
31. Nixon, G.A. Toxicity evaluation of trisodium nitrilotriacetate. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 18: 398 (1971).
32. Greenblatt, M. et Lijinsky, W. Carcinogenesis and chronic toxicity of nitrilotriacetic acid in Swiss mice. *J. Natl. Cancer Inst.*, 52: 1123 (1974).
33. Lijinsky, W., Greenblatt, M. et Kommineni, C. Feeding studies of nitrilotriacetic acid and derivatives in rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, 50: 1061 (1973).
34. National Cancer Institute. Bioassays of nitrilotriacetic acid (NTA) and nitrilotriacetic acid, trisodium salt, monohydrate ($\text{Na}_3\text{NTA}\cdot\text{H}_2\text{O}$) for possible carcinogenicity. NCI-CG-TR-6, DHEW Publication No. (NIH) 77-806, Bethesda, MD (1977).
35. Goyer, R.A., Falk, H.L., Hogan, D.D. et Richter, W. Renal tumors in rats given trisodium nitrilotriacetic acid in drinking water for two years. *J. Natl. Cancer Inst.*, 66: 869 (1981).
36. Alden, C.L. et Kanerva, R.L. The pathogenesis of renal cortical tumours in rats fed 2% trisodium nitrilotriacetate monohydrate. *Food Chem. Toxicol.*, 20: 441 (1982).
37. Anderson, R.L., Alden, C.L. et Merski, J.A. The effects of nitrilotriacetate on cation disposition and urinary tract toxicity. *Food Chem. Toxicol.*, 20: 105 (1982).
38. Anderson, C.L. Artifacts due to secondary pathology: Case study examples. *J. Am. Coll. Toxicol.*, 2/3: 127 (1983).
39. Merski, J.A. Alterations of renal tissue structure during a 30-day gavage study with nitrilotriacetate. *Food Chem. Toxicol.*, 20: 433 (1982).
40. Alden, C.L. et Kanerva, R.L. Reversibility of renal cortical lesions induced in rats by high doses of nitrilotriacetate in chronic feeding studies. *Food Chem. Toxicol.*, 20: 935 (1982).
41. Merski, J.A. Acute structural changes in renal tubular epithelium following administration of nitrilotriacetate. *Food Cosmet. Toxicol.*, 19: 463 (1981).
42. Anderson, R.L. et Kanerva, R.L. Effect of nitrilotriacetate (NTA) on cation balance in the rat. *Food Cosmet. Toxicol.*, 16: 562 (1978).
43. Coman, R.D. Mechanisms responsible for the origin and distribution of blood-borne tumor metastases, a review. *Cancer Res.*, 13: 397 (1953).
44. Hiasa, Y., Kitahori, Y., Konishi, N., Enoki, N., Shimoyama, T. et Miyashiro, A. Trisodium nitrilotriacetate monohydrate: Promoting effects on the development of renal tubular cell tumours in rats treated with N-ethyl-N-hydroxyethyl nitrosamine. *J. Natl. Cancer Inst.*, 72: 483 (1984).
45. Kitahori, Y., Konishi, N., Shimoyama, T. et Hiasa, Y. Dose-dependent promoting effect of trisodium nitrilotriacetate monohydrate on urinary bladder carcinogenesis in Wistar rats pretreated with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine. *Jpn. J. Cancer Res. (GANN)*, 76: 818 (1985).
46. Fukushima, S., Kurata, Y., Tamano, S., Inoue, K. et Ito, N. Promoting effect of trisodium nitrilotriacetate monohydrate on urinary bladder carcinogenesis in rats. *Jpn. J. Cancer Res. (GANN)*, 76: 823 (1985).
47. Kitahori, Y., Shimoyama, T., Ohshima, M., Matsuki, H., Hashimoto, H., Minami, S., Kunishi, N. et Hiasa, Y. Effects of trisodium nitrilotriacetate monohydrate, nitrilotriacetic acid and ammonium chloride on urinary bladder carcinogenesis in rats pretreated with N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine. *Cancer Lett.*, 43: 105 (1988).
48. Montaldi, A., Mariot, R., Zordan, M., Paleologo, M. et Levis, A.G. Nitrilotriacetic acid (NTA) does not induce chromosomal damage in mammalian cells either *in vitro* or *in vivo*. *Mutat. Res.*, 208: 95 (1988).
49. Celotti, L., Furlan, D., Ferraro, P. et Levis, A.G. DNA damage and repair induced *in vitro* by nitrilotriacetic acid (NTA) in human lymphocytes. *Mutat. Res.*, 209: 149 (1988).
50. Bora, K.C. Effects of nitrilotriacetic acid (NTA) on chromosome replication and structure in human cells. *Mutat. Res.*, 31: 325 (1975).
51. Ved Brat, S. et Williams, G.M. Nitrilotriacetic acid does not induce sister-chromatid exchanges in hamster or human cells. *Food Chem. Toxicol.*, 22(3): 211 (1984).
52. Grilli, M.P. et Capucci, A. Mutagenic effect of nitrilotriacetic acid on cultured human cells. *Toxicol. Lett.*, 25: 137 (1985).
53. Montaldi, A., Zentilin, L., Venier, P., Gola, I., Bianchi, V., Paglialunga, S. et Levis, A.G. Interaction of nitrilotriacetic acid with heavy metals in the induction of sister chromatid exchanges in cultured mammalian cells. *Environ. Mutagen.*, 7: 381 (1985).
54. Dunkel, V.C. et Simmon, V.F. Mutagenic activity of chemicals previously tested for carcinogenicity in the National Cancer Institute Bioassay Program. Dans : Molecular and cellular aspects of carcinogen screening tests. R. Montesano, H. Bartsch et E. Tomatis (dir. de publ.). Publication scientifique du CIRC, Lyon, France. 249 pp. (1980).
55. Costa, R., Russo, A., Zordan, M., Pacchierotti, F., Tavella, A. et Levis, A.G. Nitrilotriacetic acid (NTA) induces aneuploidy in *Drosophila* and mouse germ-line cells. *Environ. Mol. Mutagen.*, 12: 397 (1988).
56. Jorgenson, T.A., Newell, G.W., Gribbling, P., O'Brien, M. et Chu, D. Study of the mutagenic potential of the monocalcium salt of nitrilotriacetic acid (NaCaNTA) by the dominant lethal test in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 33: 173 (1975).
57. Epstein, S.S., Arnold, E., Andrea, J., Bass, W. et Bishop, Y. Detection of chemical mutagens by the dominant lethal assay in the mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 23: 288 (1972).
58. Kramers, P.G.N. Mutagenicity studies with nitrilotriacetic acid (NTA) and Citrex S-5 in *Drosophila*. *Mutat. Res.*, 40: 277 (1976).
59. Nunziata, A., Monaco, M., Loprieno, N., Boncristiani, G., Venier, P. et Montaldi, A. Mutagenic activity of nitriloacetic acid. *Arch. Toxicol., Suppl.* 7: 407 (1984).
60. Loprieno, N., Boncristiani, G., Venier, P., Montaldi, A., Majone, F., Bianchi, V., Paglialunga, S. et Levis, A.G. Increased mutagenicity of chromium compounds by nitrilotriacetic acid. *Environ. Mutagen.*, 7: 185 (1985).

61. Tjälve, H. A study of the distribution and teratogenicity of nitrilotriacetic acid (NTA) in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 23: 216 (1972).
62. Nolen, G.A., Klusman, L.W., Back, D.L. et Buehler, E.V. Reproduction and teratology studies of trisodium nitrilotriacetate in rats and rabbits. *Food Cosmet. Toxicol.*, 9: 509 (1971).
63. Nolen, G.A., Bohne, R.L. et Buehler, E.V. Effects of trisodium nitrilotriacetate, trisodium citrate and a trisodium nitrilotriacetate–ferric chloride mixture on cadmium and methyl mercury toxicity and teratogenesis in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 23: 238 (1972).
64. Nolen, G.A., Buehler, E.V., Geil, R.G. et Goldenthal, E.I. Effects of trisodium nitrilotriacetate on cadmium and methyl mercury toxicity and teratogenicity in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 23: 222 (1972).