

**anses**

agence nationale de sécurité sanitaire  
alimentation, environnement, travail



*Connaître, évaluer, protéger*

## Valeurs limites d'exposition en milieu professionnel

Evaluation des indicateurs  
biologiques d'exposition et  
recommandation de valeurs  
biologiques de référence pour  
le butylbenzyl-phthalate (BBzP)

Avis de l'Anses  
Rapport d'expertise collective

Février 2017

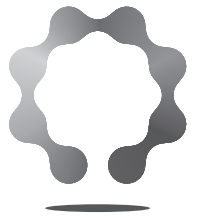
Édition scientifique





**anses**

agence nationale de sécurité sanitaire  
alimentation, environnement, travail



*Connaître, évaluer, protéger*

# Valeurs limites d'exposition en milieu professionnel

Evaluation des indicateurs  
biologiques d'exposition et  
recommandation de valeurs  
biologiques de référence pour  
le butylbenzyl-phtalate (BBzP)

Avis de l'Anses

Rapport d'expertise collective

Février 2017

Édition scientifique



Le Directeur général

Maisons-Alfort, le 8 février 2017

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

**relatif à la proposition de valeurs limites d'exposition à des agents chimiques en milieu professionnel**

**Evaluation des indicateurs biologiques d'exposition et recommandation de valeurs biologiques de référence pour le butylbenzyl-phtalate (BBzP)  
(N° CAS : 85-68-7)**

---

*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 à 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 publiés sur son site internet.*

---

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

La France ne dispose actuellement pas de valeurs limites d'exposition professionnelle (VLEP) sur 8 heures ou 15 minutes pour le butylbenzyl-phtalate (BBzP).

L'Anses a été saisie le 12 juin 2007 par la Direction Générale du Travail afin de mener les travaux d'expertise nécessaires à la fixation de VLEP pour une vingtaine de substances dont le BBzP.

Cette saisine a été confiée au Comité d'Experts Spécialisés « Expertise en vue de la fixation de valeurs limites à des agents chimiques en milieu professionnel » (CES VLEP) qui en mars 2016, a finalisé un rapport<sup>1</sup> dans lequel il était notamment recommandé :

- de fixer une valeur limite d'exposition professionnelle-8h de 13 mg.m<sup>-3</sup> afin de prévenir sur les lieux de travail des effets éventuels sur l'appareil reproducteur mâle en lien avec une activité anti-androgénique du BBzP (altération de la fonction de reproduction) et du MBzP (métabolite principal chez l'Homme)

---

<sup>1</sup> Anses. (2016). Evaluation des effets sur la santé et des méthodes de mesure des niveaux d'exposition sur le lieu de travail pour le butylbenzyl-phtalate. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, Maisons-Alfort. 120 p.

- de ne pas dépasser 5 fois la valeur recommandée pour la VLEP-8h sur une période de 15 minutes (*i.e.* 65 mg.m<sup>-3</sup>) afin de limiter l'importance des niveaux d'exposition sur de courtes durées d'exposition ;
- d'attribuer la mention « peau ».

L'Anses a souhaité compléter son expertise par l'évaluation des données de surveillance biologique en milieu professionnel pour le BBzP afin d'établir la pertinence de recommander le suivi d'un ou plusieurs indicateurs en plus d'une VLEP et l'établissement de valeurs limites biologiques pour l'(les) indicateur(s) biologique(s) retenus.

## **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 spécialisés (CES) « Expertise en vue de la fixation de valeurs limites à des agents chimiques en milieu professionnel » (CES-VLEP).

Ce dernier a mandaté plusieurs rapporteurs, le groupe de travail « indicateurs biologiques d'exposition » (mandature 2010-2013) et des agents de l'Anses pour la réalisation des travaux d'expertise.

Le présent avis se fonde pour les aspects scientifiques sur le rapport intitulé « Expertise collective en vue de la fixation de valeurs limites d'exposition à des agents chimiques en milieu professionnel » relatif à l'évaluation des indicateurs biologiques d'exposition et à la recommandation de valeurs biologiques de référence pour le butylbenzyl-phthalate (Mai 2015).

Le CES VLEP (mandat 2010-2013) a adopté la synthèse et les conclusions de l'expertise collective le 13 décembre 2013. Le rapport et la note d'expertise collective ont fait l'objet d'une consultation publique du 1<sup>er</sup> octobre 2014 au 1<sup>er</sup> décembre 2014. Les personnes ou organismes ayant contribué à la consultation publique sont listés à l'annexe 3 du rapport d'expertise collective. Les commentaires reçus ont été examinés et discutés par le CES VLEP (mandat 2014 - 2017 qui a adopté cette version le 12 mai 2015).

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 publiées sur le site internet de l'Anses ([www.anses.fr](http://www.anses.fr)).

## **3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES**

### Choix des indicateurs biologiques d'exposition

Deux métabolites du BBzP sont détectables dans les urines chez l'Homme : le mono-n-butyl-phthalate [ou MnBP urinaire] et le mono-benzyl-phthalate [ou le MBzP urinaire]. Les avantages et limites de chaque indicateur biologique ont été étudiés et un seul indicateur biologique d'exposition, le MBzP urinaire, a été retenu comme le plus pertinent pour le suivi biologique des expositions professionnelles au BBzP.

Les prélèvements urinaires peuvent être réalisés en fin de poste (reflet de la journée).

### Construction de valeurs limites biologiques (VLB) et choix de valeurs biologiques de référence (VBR)

Les études épidémiologiques dans lesquelles le MBzP a été mesuré en relation avec des effets sanitaires concernent essentiellement la population générale. Parmi les 11 études disponibles ayant décrit l'association statistique entre les concentrations urinaires de MBzP et la survenue d'effets sanitaires (effets sur la fertilité et le développement), seules deux études rapportent des résultats statistiquement significatifs (effet observé lorsque les concentrations urinaires de MBzP sont augmentées). Ainsi, les études chez l'humain montrent rarement d'association statistique entre les paramètres de reprotoxicité et les concentrations urinaires de MBzP. Par ailleurs, aucune étude épidémiologique en milieu professionnel mettant en relation les concentrations urinaires de MBzP et la survenue d'effets sanitaires n'est disponible. Il n'est donc pas possible, en l'état actuel des connaissances, de recommander une valeur limite biologique sur la base d'effets sanitaires.

Dans la mesure où aucune étude de terrain mettant en relation les concentrations atmosphériques de BBzP et ses indicateurs biologiques d'exposition potentiels (et notamment le MBzP) n'est disponible, il n'est donc également pas possible d'établir une VLB sur la base d'une exposition à la VLEP.

Le CES VLEP a recommandé une VLEP-8h à partir d'une étude animale (étude chez le rat par voie orale) après extrapolation à l'Homme. Les calculs proposés par Kohn *et al.* (2000) pourraient être utilisés pour calculer une concentration urinaire chez l'Homme à partir des données disponibles chez l'animal mais présentent de nombreuses incertitudes. Par conséquent, aucune valeur biologique ne peut être construite à partir des données expérimentales. En population générale, à défaut de données en France, c'est l'enquête de santé publique américaine (NHANES) rapportant des mesures de MBzP urinaire (échantillons collectés en 2009-2010) qui a été retenue pour définir une valeur biologique de référence. Cette valeur correspond au niveau d'imprégnation élevé (95<sup>ème</sup> percentile) mesuré dans une population générale d'adultes (catégorie des plus de 20 ans). En partant de l'hypothèse que les caractéristiques de la population américaine sont proches de celles de la population française, une concentration de 40 µg.L<sup>-1</sup> ou 30 µg.g<sup>-1</sup> de créatinine pour le MBzP urinaire a été proposée comme valeur biologique de référence.

Les experts du CES VLEP ont également rapporté que le caractère ubiquitaire du BBzP dans l'environnement non professionnel (alimentation, cosmétiques, dalles plastifiées...) est certainement un facteur de variabilité des résultats des dosages urinaires de MBzP.

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

Conformément aux conclusions de son Comité d'Experts Spécialisés (CES) « Expertise en vue de la fixation de valeurs limites à des agents chimiques en milieu professionnel », l'Anses recommande le suivi du MBzP urinaire comme indicateur biologique des expositions professionnelles au BBzP.

La valeur biologique de référence (VBR) proposée pour le MBzP (mesuré dans l'urine) est de 40 µg.L<sup>-1</sup> ou 30 µg.g<sup>-1</sup> de créatinine. Cette valeur a été proposée à partir des niveaux d'imprégnation de l'enquête de santé publique américaine (NHANES) rapportant des mesures de MBzP urinaire (échantillons collectés en 2009-2010) et n'a pas pour objectif de protéger des effets sanitaires, mais permet de mettre à disposition une aide à l'interprétation des niveaux d'exposition des travailleurs. Les prélèvements peuvent être réalisés en fin de poste.

Par ailleurs, l'Anses tient à souligner que :

- Le BBzP étant classé toxique pour la reproduction R1B, la substitution des substances cancérigènes, mutagènes et toxiques pour la reproduction (CMR) par des procédés moins nocifs doit être une démarche prioritaire dans la prévention du risque chimique ;

- sur le site « substitution-cmr<sup>2</sup> », 3 démarches de substitution pour le BBzP sont disponibles<sup>3</sup> ;
- le principe « ALARA<sup>4</sup> » (aussi bas que raisonnablement possible) doit être appliqué.

Éléments d'information complémentaires pouvant être utiles aux gestionnaires des risques :

Il n'existe pas de données précises en France concernant la consommation française annuelle et le nombre de travailleurs exposés au BBzP. Un document de l'ECHA<sup>5</sup> indique qu'en 2009-2010, l'utilisation de 4 phtalates dont le BBzP<sup>6</sup> dans les articles mis sur le marché dans l'Union Européenne a diminué de 35% par rapport aux usages de 2007, indiquant que la substitution a bien été mise en œuvre.

Enfin, l'Anses tient également à rappeler que le BBzP est soumis à la procédure d'autorisation dans le cadre du règlement REACH. Ainsi l'utilisation de cette substance au sein des entreprises est soumise au respect des conditions d'usage telles que définies dans l'autorisation spécifique délivrée par l'ECHA et que, par conséquent, ses usages, y compris en milieu professionnel, sont amenés à être fortement contrôlés. Aucune demande d'autorisation n'ayant été déposée par l'industrie, l'usage du BBzP<sup>7</sup> est de ce fait interdit en Europe depuis le 21 février 2015.

Par ailleurs, le BBzP est inscrit à l'annexe XVII de REACH relative aux restrictions d'usage de certaines substances. Le BBzP ne peut donc pas être utilisé en tant que substance ou dans des mélanges, à une concentration supérieure à 0,1 % en poids de matière plastifiée dans les jouets et articles de puériculture. Il est à noter qu'actuellement le BBzP (ainsi que trois autres phtalates<sup>6</sup>) font l'objet d'une procédure de proposition de restriction qui vise l'interdiction de la mise sur le marché des articles contenant plus de 0,1% en poids de ces phtalates dans les articles.

**Dr Roger GENET**

**MOTS-CLÉS**

Indicateur biologique d'exposition, valeurs limites, niveaux d'exposition, milieu professionnel, agents chimiques, butylbenzyl-phtalate, valeurs limites biologiques, expertise.

Biological indicator of exposure, biomarker, limit values, exposure levels, occupational, chemical agents, butylbenzyl-phthalate, biological limit values, expertise.

<sup>2</sup> <http://www.substitution-cmr.fr/>

<sup>3</sup> A noter que l'Anses ne réalise pas d'évaluation des risques des substituts. Ces exemples de substitution ne doivent pas être lus comme des modèles de substitution directs par les substances citées mais uniquement comme une incitation à engager une démarche de substitution.

<sup>4</sup> As Low As Reasonably Achievable

<sup>5</sup> European Chemicals Agency. Opinion on an Annex XV dossier proposing restrictions on four phtalates: <http://echa.europa.eu/documents/10162/77cf7d29-ba63-4901-aded-59cf75536e06> (consulté le 22/07/2016)

<sup>6</sup> Les 3 autres phtalates sont le di(2-éthylhexyl)phtalate (DEHP), le di-n-butyl phtalate (DnBP) et le diisobutylphtalate (DIBP).

<sup>7</sup> à l'exception des exemptions sectorielles prévues par le règlement REACH.



**Expertise en vue de la fixation de valeurs limites  
d'exposition à des agents chimiques en milieu  
professionnel**

**Evaluation des indicateurs biologiques d'exposition en vue de la  
recommandation de valeurs biologiques de référence pour le  
Butylbenzyl-phthalate (n° CAS 85-68-7)**

---

**Mission permanente VLEP  
Saisine n°2013-SA-0104**

**RAPPORT  
d'expertise collective**

**Comité d'experts spécialisé « Expertise en vue de la fixation de valeurs limites à  
des agents chimiques en milieu professionnel »**

**Mai 2015**

## Mots clés

---

Valeurs limites biologiques, indicateurs biologiques d'exposition, valeurs limites, niveaux d'exposition, milieu professionnel, agents chimiques, expertise, butylbenzyl-phthalate, phtalate de benzyle et de butyle

## 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.

### **GRUPE DE TRAVAIL « INDICATEURS BIOLOGIQUES D'EXPOSITION » (2010 - 2013)**

---

#### **Président**

M. Claude VIAU – Professeur associé à l'université de Montréal – Compétences : Toxicologie, IBE, Hygiène industrielle, métrologie des polluants

#### **Membres**

Mme Michèle BERODE - Chimiste PhD (IST) – Compétences : IBE, métrologie des polluants ; a démissionné le 25/02/2013.

M. Dominique BICOUT - Chercheur (Université Joseph Fourier, Grenoble) - Compétences : modélisation PBPK, expositions polluants chimiques.

Mme Mireille CANAL-RAFFIN - Enseignant-chercheur, praticien attaché (Université Bordeaux 2) - Compétences : Praticien hospitalo-universitaire, toxicologie.

M. Christian LAURENT - Consultant indépendant (agences sanitaires publiques) – Compétences : Toxicologie génétique, biosurveillance.

Mme Bénédicte LELIEVRE - Assistante hospitalo-universitaire (CHU d'Angers) - Compétences : toxicologie, surveillance biologique.

Mme Nolwenn NOISEL - Conseillère scientifique (Agence de santé et services sociaux, Canada) - Compétences : toxicologie, surveillance biologique.

M Alain ROBERT - Chimiste analyste (INRS) - Compétences : Surveillance biologique des expositions aux substances organiques.

Mme Irène SARI-MINODIER - Médecin MCU-PH (CHU de Marseille, Aix-Marseille Université) - Compétences : Médecine du travail, toxicologie génétique, modélisation PBPK.

**COMITE D'EXPERTS SPÉCIALISÉ « EXPERTISE EN VUE DE LA FIXATION DE VALEURS LIMITES À DES AGENTS CHIMIQUES EN MILIEU PROFESSIONNEL » (2010 - 2013)**

---

**Président**

M. François PAQUET – Coordinateur de recherches (IRSN) – Compétences : radiotoxicologie, dosimétrie interne, toxicocinétique, évaluation des risques

**Membres**

M. Billy AMZAL – Vice-président du groupe LASER – Compétences : évaluation des risques sanitaires, modélisation.

M. Marc BARIL – Professeur associé à l'université de Montréal – Compétences : Toxicologie, chimie.

Mme Michèle BERODE – Chimiste PhD (IST) – Compétences : IBE, métrologie des polluants ; a démissionné le 25/02/2013.

M. Stéphane BINET – Chef du laboratoire de cancérogenèse et toxicité du développement adjoint au chef du département Polluants et santé (INRS) - Compétences : toxicologie

M. Patrick BRETON - Expert Adjoint au chef de la division « Risques » / Ingénieur de recherche Ministère de la Défense – Compétence : Toxicologie

Mme Fatiha ELGHISSASI – Professionnelle scientifique (IARC) - compétences : biochimie, évaluation de la cancérogenèse

M. Michel FALCY – Adjoint au chef de département « Etudes et assistance médicale et responsable du pôle toxicologie » (INRS) – Compétences : médecine du travail, toxicologie

M. Luc FONTANA – médecin PU/PH (CHU Saint-Etienne) – Compétences : médecine et santé au travail, toxicologie

Mme Yuriko IWATSUBO – Médecin épidémiologiste (InVS) – Compétences : épidémiologie des risques professionnels

M. Jean-Pierre LEPOITTEVIN - Professeur des universités et directeur du Laboratoire de Dermatochimie (Université de Strasbourg) – Compétences : dermatochimie, allergies, immunologie

M. Renaud PERSOONS – Assistant hospitalo-universitaire (CHU Grenoble) – Compétences : toxicologie, IBE

Mme Florence PILLIERE – Conseiller médical en toxicologie (INRS) – Compétences : médecine du travail, toxicologie, IBE

M. David VERNEZ – Chef de groupe et co-directeur (ad interim) (IST) – Compétences : Hygiène industrielle

M. Claude VIAU – Professeur associé à l'université de Montréal – Compétences : Toxicologie, IBE, Hygiène industrielle, métrologie des polluants

M. Raymond VINCENT – Chargé de mission - Direction Déléguée aux Applications (INRS). Compétences : chimiste, métrologie des polluants

M. Adolf VYSKOCIL – Professeur associé à l'université de Montréal – Compétences : toxicologie, IBE, hygiène industrielle

**ADOPTION DU RAPPORT PAR LE COMITE D'EXPERTS SPÉCIALISÉ « EXPERTISE EN VUE DE LA FIXATION DE VALEURS LIMITES À DES AGENTS CHIMIQUES EN MILIEU PROFESSIONNEL » (2014 – 2017)****Président**

M. Claude VIAU – Professeur associé à l'université de Montréal – Compétences : Toxicologie, IBE, hygiène industrielle, métrologie des polluants

**Membres**

M. Marc BARIL – Professeur associé à l'université de Montréal – Compétences : Toxicologie, chimie ; également membre du CES « caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence »

M. Stéphane BINET – Chef du laboratoire de cancérogenèse et toxicité du développement ; adjoint au chef du département Polluants et santé (INRS) - Compétences : toxicologie

Mme Irina CANU – Epidémiologiste (InVS) - Compétences : Epidémiologie, toxicologie

Mme Anne CHEVALIER – Retraitée – Compétences : Epidémiologie ; également membre du CES « caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence »

Mme Carole DUPLAINE – Toxicologue (Sud Loire santé au travail) habilitée intervenant en prévention des risques professionnels (IPRP) - Compétences : toxicologie

Mme Perrine HOET – Professeur à l'université catholique de Louvain – Compétences : médecine, toxicologie industrielle

Mme Yuriko IWATSUBO – Médecin épidémiologiste (InVS) – Compétences : épidémiologie des risques professionnels, médecine

Mme Anne MAITRE – Professeur des universités – praticien hospitalier (PU-PH) (CHU Grenoble) ; Responsable de l'équipe « Environnement et prédiction de la santé des populations » (faculté de médecine de Grenoble) – Compétences : médecine, toxicologie, IBE, métrologie des polluants, hygiène industrielle

M. Fabrizio PARISELLI – Toxicologue (CNRS) - Compétences : toxicologie ; également membre du CES « Substances chimiques visées par les règlements REACH et CLP »

Mme Florence PILLIERE – Conseiller médical en toxicologie (INRS) – Compétences : médecine du travail, toxicologie, IBE

M. Frank RIVIERE – Médecin du travail (Service de santé des armées) – Compétences : médecine du travail, toxicologie

M. Davy ROUSSET : Responsable du laboratoire d'analyse inorganique et de caractérisation des aérosols (INRS) – Compétences : métrologie des polluants dans l'air des lieux de travail, chimie inorganique

M. David VERNEZ – Co-directeur de l'Institut universitaire romand de santé au travail (IST) (ad interim) – Compétences : Hygiène industrielle

M. Raymond VINCENT – Chargé de mission - Direction Déléguée aux Applications (INRS). Compétences : chimiste, métrologie des polluants

M. Adolf VYSKOCIL – Professeur associé à l'université de Montréal – Compétences : toxicologie, IBE, hygiène industrielle

## **PARTICIPATION ANSES**

---

### **Coordination scientifique**

Mme Dominique BRUNET

Mme Marie-Laure COINTOT<sup>1</sup>

Mme Mounia EL YAMANI<sup>2</sup>

Mme Fatoumata SISSOKO

### **Contribution scientifique**

Mme Marie-Laure COINTOT

Mme Fatoumata SISSOKO

### **Secrétariat administratif**

Mme Séverine BOIX

---

<sup>1</sup> *Départ de l'Anses en janvier 2015*

<sup>2</sup> *Départ de l'Anses en février 2013*

## SOMMAIRE

<b>Présentation des intervenants</b> .....	<b>2</b>
Expertise collective : synthèse de l'argumentaire et conclusions .....	8
<b>Préambule</b> .....	<b>19</b>
<b>Abréviations</b> .....	<b>20</b>
<b>1 Données de cinétique et de toxicodynamie relatives à la substance chimique en cause</b> .....	<b>21</b>
<b>1.1 Absorption</b> .....	<b>21</b>
1.1.1 Cutanée.....	21
1.1.2 Pulmonaire.....	21
1.1.3 Digestive .....	21
<b>1.2 Distribution</b> .....	<b>21</b>
<b>1.3 Métabolisation</b> .....	<b>22</b>
<b>1.4 Excrétion</b> .....	<b>23</b>
<b>2 Identification des différents indicateurs biologiques d'exposition et indicateurs biologiques d'effets associés à la substance chimique</b> .....	<b>25</b>
<b>2.1 Indicateurs biologiques d'exposition disponibles</b> .....	<b>25</b>
2.1.1 Informations générales .....	25
2.1.2 Avantages et limites des indicateurs biologiques d'exposition identifiés.....	26
2.1.3 Choix des indicateurs biologiques d'exposition identifiés comme pertinents pour le suivi biologique des expositions professionnelles.....	26
<b>2.2 Indicateurs biologiques d'effets disponibles</b> .....	<b>27</b>
<b>3 Informations concernant les indicateurs biologiques d'exposition identifiés comme pertinents pour la surveillance biologique des professionnels exposés</b> .....	<b>28</b>
<b>3.1 Données bibliographiques sur la corrélation entre les niveaux biologiques et les effets sur la santé pour chaque IBE identifié</b> .....	<b>28</b>
3.1.1 Effets sur la reproduction et le développement .....	28
3.1.1.1 Etudes chez l'homme adulte .....	28
3.1.1.2 Etudes chez la femme adulte .....	31
3.1.1.3 Etudes chez le nouveau-né et l'enfant (en relation avec les expositions de la mère) .....	32
3.1.2 Autres effets.....	33
<b>3.2 Données bibliographiques sur la corrélation entre l'exposition (atmosphérique et cutanée) et les niveaux biologiques observés pour chaque IBE identifié</b> .....	<b>33</b>
<b>3.3 Facteurs pouvant influencer l'interprétation des résultats</b> .....	<b>37</b>
<b>3.4 Modalités de prélèvement</b> .....	<b>37</b>
3.4.1 Moment du prélèvement .....	37
3.4.2 Méthodes de prélèvement .....	38
3.4.3 Conservation, transport des prélèvements .....	38

<b>4</b>	<b>Biométrie</b> .....	<b>39</b>
<b>5</b>	<b>Construction des VLB et choix des valeurs biologiques de référence</b> ....	<b>40</b>
5.1	Valeurs limites biologiques et valeurs biologiques de référence retenues .....	40
5.2	Modalités et précautions particulières concernant les prélèvements biologiques pour chaque IBE retenu .....	41
5.3	Données pouvant affecter l'interprétation des résultats .....	42
<b>6</b>	<b>Conclusions de l'expertise collective</b> .....	<b>43</b>
<b>7</b>	<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>45</b>
<b>Annexe 1 : Résultats des analyses d'association réalisées par Duty et al. (2003)</b>		<b>50</b>
<b>Annexe 2 : Méthodes d'extrapolation : calcul de l'exposition au BBzP à partir d'une concentration urinaire de MBzP</b> .....		<b>51</b>
<b>Annexe 3 : Consultation publique</b> .....		<b>52</b>
<b>Annexe 4 : Suivi des actualisations du rapport</b> .....		<b>53</b>



## Expertise collective : synthèse de l'argumentaire et conclusions

Relatives à « l'expertise en vue de la fixation de valeurs limites d'exposition à des agents chimiques en milieu professionnel »

Evaluation des indicateurs biologiques d'exposition en vue de la recommandation de valeurs biologiques de référence pour le butylbenzyl-phthalate (n° CAS 85-68-7)

---

Ce document synthétise les travaux du comité d'experts spécialisé « Expertise en vue de la fixation de valeurs limites à des agents chimiques en milieu professionnel » (CES VLEP) et du groupe de travail « Indicateurs biologiques d'exposition » (GT IBE).

---

### Présentation de la question posée

L'Afsset, devenue Anses en juillet 2010, a été saisie le 12 juin 2007 par la direction générale du travail afin de mener les travaux d'expertise nécessaires à la fixation de valeurs limites d'exposition professionnelle pour le butylbenzyl-phthalate (BBzP).

La France ne dispose actuellement pas de valeurs limites d'exposition (sur 8 heures ou 15 minutes) pour le butylbenzyl-phthalate.

La direction générale du travail a demandé à l'Anses d'évaluer cette substance et de proposer le cas échéant, des valeurs d'exposition en milieu professionnel basées sur des considérations sanitaires pour le butylbenzyl-phthalate.

Le CES VLEP a souhaité conduire l'évaluation des données de surveillance biologique en milieu professionnel afin d'évaluer la pertinence de recommander le suivi d'un ou plusieurs indicateurs biologiques en plus d'une VLEP voire de construire des valeurs limites biologiques pour l'(les) indicateur(s) biologique(s) retenus.

### Contexte scientifique

Le suivi biologique des expositions en milieu professionnel s'est imposé comme une méthode complémentaire à la métrologie atmosphérique pour l'évaluation des expositions à des agents chimiques. La surveillance biologique permet d'évaluer l'exposition d'un travailleur en intégrant toutes les voies de pénétration de l'agent chimique dans l'organisme (poumon, peau, tube digestif). Elle est plus particulièrement pertinente lorsque les substances ont un effet systémique et :

- lorsque d'autres voies que l'inhalation contribuent largement à l'absorption ;
- et/ou lorsque le polluant est cumulatif ;
- et/ou lorsque les conditions de travail (équipements de protection individuelle, différences interindividuelles de la ventilation respiratoire...) déterminent d'importantes différences de dose interne que la métrologie atmosphérique ne prend pas en compte.

En France, le code du travail dans le cadre de la prévention du risque chimique en milieu professionnel prévoit le recours à la surveillance biologique des expositions et aux valeurs limites biologiques.

## Définitions du CES VLEP

Indicateur biologique d'exposition : c'est la substance mère, ou un de ses métabolites, dosé(e) dans un milieu biologique, dont la variation est associée à une exposition à l'agent visé par l'IBE. Des indicateurs biologiques d'effets précoces et réversibles s'ajoutent à cette définition dans la mesure où ils peuvent être spécifiquement corrélés à l'exposition professionnelle.

Valeur limite biologique (VLB) : c'est la valeur limite des indicateurs biologiques d'exposition pertinents.

En fonction des données disponibles, les valeurs limites biologiques recommandées n'ont pas la même signification :

- si le corpus de données scientifiques est suffisant pour quantifier avec certitude une relation dose/réponse, les valeurs limites biologiques (VLB) seront construites sur la base de données sanitaires (absence d'effet pour les substances à seuil ou niveaux de risque pour les substances cancérigènes sans seuil) ;
- en l'absence de telles données, pour les substances à seuil d'effet, la VLB sera calculée sur la base de la concentration attendue de l'IBE lorsque le travailleur est exposé à la VLEP-8h. Pour les substances cancérigènes, en l'absence de données quantitatives suffisantes, c'est sur la base d'un autre effet qu'une valeur limite biologique sera calculée (VLB pragmatique). Ces dernières valeurs ne garantissent pas de l'absence d'effets sanitaires, mais visent à limiter les expositions à ces substances sur les lieux de travail.

Le CES VLEP recommande également, lorsque cela est possible, des valeurs biologiques de référence (VBR). Elles correspondent à des concentrations retrouvées dans une population générale dont les caractéristiques sont proches de celles de la population française (préférentiellement pour les indicateurs biologiques d'exposition) ou dans une population de témoins non professionnellement exposés à la substance étudiée (préférentiellement pour les indicateurs biologiques d'effets).

Ces VBR ne peuvent être considérées comme protectrices de l'apparition d'effets sanitaires ; elles permettent cependant une comparaison avec les concentrations d'indicateurs biologiques d'exposition mesurées chez des professionnels exposés. Ces valeurs sont particulièrement intéressantes dans les cas où il n'est pas possible d'élaborer une VLB.

## **Organisation de l'expertise**

L'Anses a confié au comité d'experts spécialisés « Expertise en vue de la fixation de valeurs limites à des agents chimiques en milieu professionnel » l'instruction de cette saisine. L'agence a également mandaté le groupe de travail (GT) « indicateurs biologiques d'exposition (IBE) » pour cette instruction.

Les travaux d'expertise du groupe de travail ont été soumis régulièrement au CES (tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques). Le rapport produit par le groupe de travail tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES.

Ces travaux d'expertise sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires. Ils ont été réalisés dans le respect de la norme NF X 50-110 « qualité en expertise ».

## **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](http://www.anses.fr)).

## Description de la méthode

Deux rapporteurs au sein de ce GT ont été mandatés par l'Anses pour la réalisation d'un rapport de synthèse sur les indicateurs biologiques d'exposition et la recommandation de valeurs limites biologiques (VLB) et de valeurs biologiques de référence pour le ou les IBE retenus comme pertinents. Un agent de l'Anses a également contribué à ce rapport.

Le rapport de synthèse relatif aux indicateurs biologiques d'exposition au butylbenzyl-phthalate est issu d'éléments bibliographiques prenant en compte la littérature scientifique parue sur cette substance jusqu'en mars 2013.

La recherche bibliographique a été effectuée dans les bases de données suivantes : Medline, Toxline, HSDB, ToxNet (CCRIS, GENE-TOX, IRIS), ScienceDirect. Les rapporteurs ont réévalué les articles source ou les rapports cités en référence à chaque fois qu'ils l'ont estimé nécessaire ou que le CES VLEP leur en a fait la demande.

Le rapport ainsi que la synthèse et les conclusions de l'expertise collective ont été adoptées par le CES « Expertise en vue de la fixation de valeurs limites à des agents chimiques en milieu professionnel » (mandature 2010 - 2013) le 13 décembre 2013.

Ce rapport et les conclusions ont fait l'objet d'une consultation publique du 01/10/2014 au 01/12/2014. La liste des personnes ou organismes ayant contribué à la consultation publique sont listés en annexe. Les commentaires reçus ont été examinés et discutés par le CES VLEP (mandat 2014 - 2017) qui a adopté cette version le 12 mai 2015.

## Résultat de l'expertise collective

### Introduction

Les articles scientifiques retenus pour l'évaluation des données de suivi biologique du butylbenzyl-phthalate ont été recensés à partir des mots clés suivants : « benzyl butyl phthalate », « biomarker », « biomonitoring », « urine », « blood » et « occupational » en limitant la recherche aux données chez l'Homme.

### Données de toxicocinétique

La voie d'absorption par inhalation n'a pas été décrite dans la littérature, que ce soit chez l'animal ou l'Homme. L'exposition par inhalation peut provenir d'aérosols générés lors de la production ou de l'usage de produit contenant du BBzP<sup>3</sup> (CE, 2007).

Il existe peu d'informations sur la distribution dans l'organisme du BBzP.

Après dégradation du BBzP en monoesters par les estérases intestinales, le mono-n-butyl-phthalate (MnBP) et le mono-benzyl-phthalate (MBzP) peuvent être métabolisés, oxydés et conjugués à l'acide glucuronique. Anderson et al. (2001) ont réalisé une étude chez des volontaires humains exposés par ingestion à des quantités déterminées de phtalates marqués par un isotope stable (Anderson et al., 2001). Les auteurs ont ainsi montré que 67 et 78% (fraction molaire, en fonction des doses administrées : 253 et 506 µg respectivement) du BBzP ingéré est éliminé dans les

<sup>3</sup>

*Produits portés à des températures élevées ou utilisation de la technique de pulvérisation en milieu professionnel*

urines sous forme de MBzP (libre et conjugué)<sup>4</sup>. Alors que le MnBP (libre et conjugué) n'est pas retrouvé à la dose la plus faible, son excrétion ne représente que 6 % de la dose la plus élevée (fraction molaire). Il est à noter que les proportions dans lesquelles sont retrouvées le MnBP et le MBzP sont inversées chez le rat. Le MnBP est retrouvé en plus grande quantité que le MBzP (Sipes<sup>5</sup> et al., cité par Agarwal et al., 1985).

Chez l'Homme, contrairement au rat, il semble que le phénomène de conjugaison à l'acide glucuronique soit un phénomène important et majoritaire puisque 93% du MBzP retrouvé dans l'urine est sous sa forme conjuguée (Silva et al., 2003). Ces différences de toxicocinétiques sont à prendre en compte dans l'interprétation des données expérimentales.

L'excrétion urinaire chez l'Homme semble la voie majoritaire. D'après les données de l'étude d'Anderson et al. (2001), jusqu'à 84% de la dose de BBzP administrée peut être retrouvée dans l'urine sous forme des deux métabolites. Cette excrétion urinaire semble rapide puisque la majorité des métabolites sont retrouvés en 24 heures.

### **Choix des indicateurs biologiques d'exposition et d'effet**

Deux métabolites sont détectables dans les urines chez l'Homme : le MBzP et le MnBP.

Le MnBP n'est pas détecté lors de faibles expositions au BBzP chez des volontaires et demeure peu détecté lors de fortes expositions uniques. En outre, il n'est pas spécifique d'une exposition au BBzP. En effet, il s'agit également d'un métabolite du DnBP. Par conséquent il n'est pas retenu comme indicateur biologique d'exposition. Le MBzP urinaire est le métabolite principal et spécifique du BBzP. De plus, il a une demi-vie compatible avec un prélèvement urinaire en fin de poste.

**Par conséquent, le MBzP urinaire est le seul indicateur biologique d'exposition retenu pour le suivi des expositions au BBzP.**

Certains effets liés à l'exposition au BBzP, mais plus largement aux phtalates ont été étudiés notamment des effets sur la reproduction chez l'adulte (modifications des niveaux hormonaux, altération de la qualité spermatique chez l'homme, endométriose et léiomyome utérin chez la femme adulte) et le développement (réduction de la distance ano-génitale à la naissance chez des garçons de mères exposées à certains phtalates). Il n'est pas possible de mettre en évidence chez l'homme un lien de causalité entre une exposition spécifique au BBzP et ces effets dans la mesure où toutes les études identifiées dans la littérature rapportent des expositions complexes à des mélanges de phtalates. Par ailleurs, les études chez l'homme montrent rarement d'association statistiquement significative entre les éventuels marqueurs de reprotoxicité et les concentrations urinaires de MBzP.

Les résultats retrouvés ne permettent donc pas d'identifier d'indicateurs d'effets pertinents pour un suivi biologique.

<sup>4</sup> L'origine de la beta glucuronidase utilisée pour traiter les échantillons urinaires n'est pas spécifiée dans cette étude.

<sup>5</sup> Communication personnelle

## Informations concernant les indicateurs biologiques d'exposition identifiés comme pertinents pour la surveillance biologique des professionnels exposés

Nom	MONO-BENZYL-PHTHALATE (MB <sub>z</sub> P) URINAIRE
Autres substances produisant cet IBE	Non Renseigné (NR)
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires	<p><u>Etudes de terrain :</u> Expositions atmosphériques correspondantes non renseignées – différents secteurs d'activité [MBzP urinaire] en fin de poste : de &lt; LD à 438 µg.g<sup>-1</sup> créatinine (cr)</p> <p><u>Etudes sur volontaires :</u> Anderson et al. (2001) - Exposition par voie orale - 253 µg de BBzP: 140 µg de MBzP.24h<sup>-1</sup> - 506 µg de BBzP: 323 µg de MBzP.24h<sup>-1</sup></p>
Facteur de conversion	Poids moléculaire (PM) : 256,26 $1 \mu\text{g.L}^{-1} = 0,004 \mu\text{mol.L}^{-1}$ $1 \mu\text{mol.L}^{-1} = 256,26 \mu\text{g.L}^{-1}$ $1 \mu\text{g.g}^{-1} \text{ cr} = 0,44 \mu\text{mol.mol}^{-1} \text{ cr}$ $1 \mu\text{mol.mol}^{-1} = 2,26 \mu\text{g.g}^{-1} \text{ cr}$
Concentrations dans la population générale	USA-NHANES (2009-2010) <sup>6</sup> 95 <sup>ème</sup> percentile : (20 ans et plus, 1914 échantillons) 39,6 µg.L <sup>-1</sup> et 29,1 µg.g <sup>-1</sup> cr (CDC, 2013)
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	Aucune

### Etude des relations entre les concentrations des IBE du BBzP et certains effets sanitaires

#### **Etudes chez l'homme adulte**

Les études épidémiologiques dans lesquelles des IBE du BBzP ont été mesurés en relation avec des effets sanitaires concernent essentiellement la population générale. Il est à noter que quatre publications (équipe de Duty et collaborateurs : Duty et al., 2003 ; Duty et al., 2004 ; Duty et al., 2005 et Hauser et al., 2006) font référence à une étude transversale (consultation pour l'infertilité dans la même clinique) qui semble avoir été reproduite plusieurs fois en reprenant à chaque fois les résultats de la précédente étude, augmentant ainsi l'effectif à chaque publication mais ne représentant pas des résultats indépendants entre eux.

En 2003, Duty et ses collaborateurs ont mis en évidence une relation entre les augmentations des concentrations de MBzP urinaires et la diminution de la concentration de spermatozoïdes. Cette dernière était 5 fois plus fréquente dans le dernier tertile de concentrations urinaires (13,4 à 540,2 µg.L<sup>-1</sup>). En revanche, ils n'ont pas observé de relation entre les augmentations des concentrations de MBzP et la diminution de la motilité des spermatozoïdes.

L'étude a été reconduite avec un effectif plus important en 2006 afin d'augmenter la puissance statistique (Hauser et al., 2006). Cette publication confirme l'absence de relation entre l'augmentation des concentrations urinaires de MBzP et la diminution de la motilité des spermatozoïdes. En revanche, les auteurs n'ont pas confirmé la relation précédemment identifiée entre les concentrations urinaires de MBzP et les concentrations de spermatozoïdes. Ils n'ont également pas mis en évidence de modification de la morphologie des spermatozoïdes.

Avec les mêmes critères, une autre équipe (Wirth et al. 2008) confirment l'absence d'association entre concentrations urinaires de MBzP et modification des paramètres spermatiques.

<sup>6</sup>

National health and nutrition examination survey - Center for disease control (USA)

Deux études n'ont pas rapporté de modification des paramètres spermatiques, ni des niveaux hormonaux chez des hommes dont les médianes des concentrations urinaires de MBzP étaient de 16 ou 34  $\mu\text{g.L}^{-1}$  (Jönsson et al., 2005 et Joensen et al., 2012).

En 2004, l'équipe de Duty et al. a réalisé une étude mettant en évidence une relation entre l'augmentation des concentrations urinaires de MBzP et des modifications des paramètres de motilité (vitesse linéaire et curvilinéaire) des spermatozoïdes toutefois les résultats n'étaient pas statistiquement significatifs.

La même équipe a également testé les relations dose-réponse entre les taux hormonaux et les concentrations de MBzP (Duty et al., 2005). Les concentrations d'hormone folliculostimulante (FSH) étaient significativement diminuées lorsque les concentrations de MBzP urinaires augmentaient. Mais selon les auteurs, il est difficile de savoir si ces résultats reflètent des altérations biologiques ou s'ils sont la conséquence de la réalisation de comparaisons multiples (statistiques).

### **Etudes chez la femme adulte**

Peu d'études ont évalué le rôle possible de l'exposition aux phtalates en lien avec la toxicité sur la reproduction chez les femmes. L'étude de Weuve et al. (2010) incluant 1200 femmes n'a pas mis en évidence d'association entre l'augmentation des concentrations urinaires en MBzP et la prévalence des cas de pathologies utérines (endométriose et léiomyome). Dans une autre étude, Itoh et al (2009), sur un effectif plus petit n'a pas mis en évidence non plus d'association entre concentrations urinaires de MBzP et endométriose.

### **Etudes chez les nouveau-nés et enfant en relation avec l'exposition des mères**

Une équipe de recherche a étudié, chez l'humain le lien éventuel entre la réduction de la distance ano-génitale à la naissance et les concentrations de métabolites urinaires de phtalates chez les mères (Swan et al., 2005). Cette première étude a mis en évidence une augmentation (statistiquement significative,  $p < 0,05$ ) de la fréquence de la réduction de la distance ano-génitale chez les nouveau-nés de sexe masculin associée à une augmentation des concentrations urinaires maternelles en MBzP. Toutefois dans une seconde étude, ces résultats n'ont pas été confirmés avec un effectif plus important (Swan et al. 2008). Il est à noter que les résultats de l'étude de 2008 sont difficilement exploitables dans la mesure où les expositions des mères ne sont pas rapportées.

**Tableau 1 : Synthèse des données des études épidémiologiques mettant en lien les concentrations urinaires de MBzP et les effets sur la reproduction chez l'adulte et le développement**

Référence	Population et effectif	Concentrations urinaires de MBzP		Paramètre de la reproduction	Classes d'exposition associée à un effet significatif ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )
		Médiane (95 <sup>ème</sup> percentile)			
		$\mu\text{g.L}^{-1}$			
	Sans ajustement	Ajusté à densité urinaire <sup>7</sup>			
Duty et al., 2003	143 hommes, infertilité couple	<b>10,3</b> (49,6)	<b>9,3</b> (32,8)	Diminution de la concentration en spermatozoïdes Fréquence multipliée par 5	13,04 – 540,24 (ajusté sur la densité urinaire)
				Pas de diminution de la motilité des spermatozoïdes	
Duty et al., 2004	220 hommes, infertilité couple	<b>9,9</b> (49,7)	<b>9,4</b> (46,8)	Modifications des paramètres de motilité des spermatozoïdes (résultats non statistiquement significatifs)	
Duty et al., 2005	295 hommes, infertilité couple	<b>6,9</b> (37,1)	<b>7,9</b> (38,4)	Augmentation du niveau de FSH	
Hauser et al., 2006	463 hommes, infertilité couple		<b>8</b> (40,6)	Pas de relation dose réponse avec les paramètres spermatiques (concentration, morphologie et motilité des spermatozoïdes)	
Jönsson et al., 2005	234 hommes suédois (service militaire)	<b>16</b> (74)		Pas d'association avec spermogramme et hormones	
Joensen et al., 2012	881 jeunes hommes	<b>34</b> (164)		Pas d'association avec spermogramme et hormones	
Wirth et al., 2008	45 hommes infertilité	<b>17,4</b> (166,6)		Pas d'association avec les paramètres spermatiques (concentration, motilité et morphologie des spermatozoïdes)	
Swan et al., 2005	858 mères	<b>8,3</b> (75 <sup>e</sup> p 23,5)		Diminution distance ano-génitale nouveau-nés de sexe masculin Fréquence multipliée par 3	$\geq 3,5$ et $< 23,5$
				Diminution distance ano-génitale nouveau-nés de sexe masculin Fréquence multipliée par 4	$\geq 23,5$

7

1,024 comme valeur de référence

8

L'article n'indique pas explicitement si l'effectif est de 85 nouveau-nés de sexe masculin ou moins

Etudes de la relation entre les concentrations de MBzP et l'exposition au BBzPEtudes de terrain (corrélation)

Aucune étude de terrain n'a examiné la corrélation entre l'exposition par inhalation au BBzP et les niveaux biologiques de MBzP dans les urines.

En milieu professionnel, seules deux études ont été identifiées. Celles-ci rapportent des concentrations urinaires de MBzP mais sans rapporter les expositions atmosphériques correspondantes.

**Tableau 2 : Concentrations urinaires de MBzP chez des travailleurs de différents secteurs (d'après Hines et al., 2009 et Martens et Martens 2002)**

Secteur d'activité	n	MBzP		Références
		Médiane - valeur maximale, en µg/L et [µg/g de créatinine]		
		Début de poste (pour Martens 2002) et milieu de poste (pour Hines 2009)	Fin de poste	
Dalles de sol	3	<b>&lt;60 [<b>&lt;43</b>]</b> 75 [70]	<b>150 [150]</b> 1020 [560]	Martens et Martens 2002
Production phtalates	9	<b>22 [9]</b> 45 [21]	<b>25 [13]</b> 736 [386]	Hines et al. 2009
Fabrique films PVC	25	<b>34 [14]</b> 130 [51]	<b>32 [16]</b> 156 [69]	
Filtres automobile	18	<b>23 [16]</b> 70 [87]	<b>21 [17]</b> 72 [50]	
Fabrique composants PVC	12	<b>18 [15]</b> 119 [52]	<b>32 [22]</b> 170 [61]	
Tuyaux caoutchouc	25	<b>16 [10]</b> 107 [54]	<b>17 [11]</b> 55 [33]	
Bottes caoutchouc	21	<b>39 [34]</b> 207 [127]	<b>74 [32]</b> 473 [125]	
Joints caoutchouc	20	<b>101 [107]</b> 747 [272]	<b>167 [139]</b> 689 [438]	
Salons manucure	25	<b>2 [3]</b> 32 [29]	<b>6 [5]</b> 54 [90]	

Données expérimentales

A défaut d'études pertinentes chez l'humain, le CES VLEP a retenu une étude chez l'animal pour la construction d'une VLEP-8h. Un effet critique (altération des organes reproducteurs et de la fertilité chez des rats mâles) transposable au travailleur a été identifié à partir de cette étude conduite sur une population de rats adultes.

La VLEP a été construite à partir d'un NOAEL chez l'animal (voie orale) de 200 mg.kg<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>. Cette dose critique chez l'animal a été extrapolée à l'Homme en réalisant un ajustement allométrique. Ainsi, une dose orale équivalente chez l'Homme de 49 mg.kg<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> a été obtenue. En 2001, Anderson et al., rapportent des données d'excrétions urinaires du MBzP chez l'humain qui pourraient être intégrées dans une équation de conservation de masse. Ce type d'équation permet à partir des doses ingérées de calculer des concentrations urinaires de MBzP (Kohn et al, 2000).



## Construction des VLB et choix des valeurs biologiques de référence

Les études épidémiologiques dans lesquelles des IBE du BBzP ont été mesurés en relation avec des effets sanitaires concernent essentiellement la population générale.

Parmi les 11 études disponibles ayant décrit l'association statistique entre les concentrations urinaires de MBzP et la survenue d'effets sanitaires (effets sur la fertilité et le développement), seules deux études rapportent des résultats statistiquement significatifs (effet observé lorsque les concentrations urinaires de MBzP sont augmentées).

L'équipe de Duty et al. a ainsi d'abord mis en évidence une diminution statistiquement significative de la concentration en spermatozoïdes lorsque les concentrations urinaires de MBzP augmentaient (Duty et al., 2003) mais n'a pas pu confirmer ce résultat avec un effectif plus important (Duty et al., 2004 ; Hauser et al., 2006). Avec les mêmes paramètres étudiés, une autre équipe confirme l'absence d'association statistique entre les concentrations urinaires de MBzP et une modification des paramètres spermatiques au sein d'une cohorte d'hommes infertiles (Wirth et al., 2008).

Deux études ont cherché à décrire les associations statistiques entre des effets pouvant être observés chez la femme adulte (endométriose, léiomyome utérin). Elles ne montrent pas d'association statistique entre les concentrations urinaires de MBzP et ces effets (Itoh et al., 2009 et Weuve et al., 2010).

Swan et al., (2005) rapporte un effet sur le développement foetal (réduction de la distance ano-génitale chez le nouveau-né de sexe masculin) en lien avec les concentrations urinaires de MBzP chez les mères. En 2008, la même équipe ne confirme pas ces résultats sans renseigner les niveaux d'exposition des mères.

En conclusion, les études chez l'humain (population générale) montrent rarement d'association statistique entre les paramètres de reprotoxicité et les concentrations urinaires de MBzP.

Par ailleurs, aucune étude épidémiologique en milieu professionnel mettant en relation les concentrations urinaires de MBzP et la survenue d'effets sanitaires n'est disponible.

Il n'est donc pas possible, en l'état actuel des connaissances, de recommander une valeur limite biologique sur la base d'effets sanitaires.

Dans la mesure où aucune étude de terrain mettant en relation les concentrations atmosphériques de BBzP et ses indicateurs biologiques d'exposition potentiels (et notamment le MBzP) n'est disponible, il n'est donc également pas possible d'établir une VLB sur la base d'une exposition à la VLEP.

Les calculs proposés par Kohn et al., (2000) ne peuvent pas être utilisés pour extrapoler la dose équivalente humaine par voie orale aux concentrations urinaires car ils intègrent de trop nombreuses incertitudes. Les paramètres cinétiques du BBzP et des métabolites ont été décrits pour une absorption par voie orale de 2 doses différentes uniquement de BBzP et les fractions d'excrétion ont été rapportées sur 24h (Anderson et al. 2001). Par conséquent, aucune valeur biologique ne peut être construite à partir des données expérimentales.

Ainsi, à défaut de pouvoir recommander une valeur limite biologique, des valeurs biologiques de référence pourront être proposées.

### Proposition de valeurs biologiques de référence

Il n'existe pas de données françaises rapportant des niveaux urinaires de MBzP sur de grands effectifs en population générale<sup>9</sup>.

Seules les données de l'enquête nationale américaine NHANES peuvent servir à l'élaboration de valeurs biologiques de référence. Les données rapportées dans cette enquête montrent que les concentrations urinaires de MBzP varient significativement en fonction de l'âge. Ce critère a donc été retenu pour analyser les résultats de l'enquête NHANES. La catégorie des plus de 20 ans a été prise en compte parmi les classes d'âge renseignées.

La concentration urinaire de 40 µg.L<sup>-1</sup> ou 30 µg.g<sup>-1</sup> de créatinine pour le MBzP correspondant au 95<sup>ème</sup> percentile de la distribution des concentrations urinaires des hommes et des femmes (âgés de plus de 20 ans), issue de la campagne de 2009-2010 est proposée comme valeur biologique de référence.

## **Conclusions de l'expertise collective**

Les valeurs biologiques proposées pour le suivi de l'exposition au butylbenzyl-phthalate sont :

### **Mono-benzyl-phthalate urinaire**

VLB basée sur un effet sanitaire	Aucune
VLB basée sur une exposition à la VLEP-8h	Aucune
Valeur biologique de référence	40 µg.L <sup>-1</sup> ou 30 µg.g <sup>-1</sup> de créatinine

### **Modalité de prélèvement et facteurs pouvant affecter l'interprétation des résultats**

Les prélèvements peuvent être réalisés en fin de poste (reflet de la journée).

Les échantillons urinaires doivent être congelés, après leur recueil, à – 20°C (Blount et al. 2000a) et – 70°C (Silva et al. 2008) pour une conservation de plusieurs années.

L'utilisation de flacons en polypropylène est préconisée car exempts de toute contamination par les phtalates (Blount et al. 2000b, Koch et al. 2003b).

Le caractère ubiquitaire du BBzP dans l'environnement non professionnel (alimentation, cosmétiques, dalles plastifiées...) est certainement un facteur de variabilité des résultats des dosages urinaires de MBzP.

<sup>9</sup>

*Pas de résultats concernant des dosages d'IBE pour des phtalates dans les enquêtes nationales françaises (ENNS et Esteban). Une cohorte (Elfe) a pour objectif de mesurer des concentrations d'IBE (notamment de phtalates) chez des jeunes enfants (de la naissance à l'âge adulte) et leurs mères, mais que les résultats ne sont pas encore publiés.*

**Biométrie**

<b>Mono-benzyl-phthalate urinaire</b>		
Contrôle qualité interlaboratoire	NR	
	<b>Méthode 1</b>	<b>Méthode 2</b>
Technique d'analyse	Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (ionisation électrospray) LC-ESI-MS/MS	Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (ionisation électrospray) LC-ESI-MS/MS
Limite de détection	NR	0,3 µg.L <sup>-1</sup>
Limite de quantification	0,5 µg.L <sup>-1</sup>	NR
Répétabilité et Fidélité intermédiaire	CV : 3,9 et 3,6 % à 9 µg.L <sup>-1</sup>	CV : 5,4 et 6,8 % à 73 µg.L <sup>-1</sup>
Justesse	NR	3 %
Etalon de référence	Solution standard : D <sub>4</sub> MBzP	Solution standard : <sup>13</sup> C <sub>4</sub> -MBzP
Traitement avant analyse	Traitement 1h00 à 37°C à la β-glucuronidase <sup>10</sup> . Extraction SPE en ligne des métabolites.	Traitement 1h30 à 37°C à la β-glucuronidase <sup>10</sup> . Extraction SPE en ligne des métabolites.
Références	Koch et al 2003b	Silva et al. 2007
Contrôle qualité interlaboratoire	Programme d'inter-comparaison (G-EQUAS) organisé par l'Université d'Erlangen-Nuremberg	
	<b>Méthode 3</b>	
Technique d'analyse	LC-ESI-MS/MS	
Limite de détection	NR	
Limite de quantification	0,2 µg.L <sup>-1</sup>	
Répétabilité et Fidélité intermédiaire	CV : 5,7 et 3,8 % à 100 ng.mL <sup>-1</sup>	
Justesse	NR	
Etalon de référence	Solution standard : <sup>13</sup> C <sub>4</sub> -MBzP	
Traitement avant analyse	Traitement 1h30 à 37°C à la β-glucuronidase <sup>10</sup> . Injection directe de l'urine (10 µl).	
Références	Servaes et al. 2013	

<sup>10</sup>β-glucuronidase d'*Escherichia Coli*, car sans activité lipasique sur les diesters de phtalate. Le contrôle de la dé-conjugaison est réalisé par incorporation dans les échantillons de 4-méthyl-umbelliferyl-glucuronide (<sup>13</sup>C<sub>4</sub>).

## Préambule

Le dispositif français d'établissement des VLEP comporte trois phases clairement distinctes :

- une phase d'expertise scientifique indépendante (seule phase confiée à l'agence) ;
- une phase d'établissement d'un projet réglementaire de valeur limite contraignante ou indicative par le ministère chargé du travail ;
- une phase de concertation sociale lors de la présentation du projet réglementaire au sein du Conseil d'Orientation sur les Conditions de Travail (COCT). L'objectif de cette phase étant de discuter de l'effectivité des valeurs limites et de déterminer d'éventuels délais d'application, fonction de problèmes de faisabilité technico-économique.

L'organisation de la phase d'expertise scientifique nécessaire à la fixation des valeurs limites d'exposition professionnelle (VLEP) a été confiée à l'Anses. La recommandation d'un suivi biologique de certaines substances en milieu professionnel et des valeurs biologiques associées à des indicateurs biologiques d'exposition (IBE) fait partie de cette mission. En fonction de l'agent chimique considéré et des données scientifiques disponibles les valeurs biologiques recommandées n'ont pas la même portée.

Une **valeur limite biologique** correspond à la valeur limite pour les indicateurs biologiques jugés pertinents. Tout comme la VLEP-8h, elle vise à protéger des effets néfastes liés à l'exposition à moyen et long termes, les travailleurs exposés à l'agent chimique considéré, régulièrement et pendant la durée d'une vie de travail.

Pour les substances à seuil d'effet, la VLB sera déterminée au mieux à partir d'une relation avec un effet jugé critique (VLB basée sur un effet sanitaire). L'effet sanitaire sera le plus souvent celui à partir duquel la VLEP-8h a été établie. A défaut, la valeur sera donnée par la concentration moyenne correspondant à une exposition à la VLEP-8h dans l'examen de la corrélation directe entre la concentration de l'IBE et la concentration atmosphérique de la substance étudiée (VLB basée sur une exposition à la VLEP-8h).

Dans le cas des substances considérées comme cancérigènes sans seuil d'effet, lorsque l'information scientifique disponible permet de faire une évaluation quantitative de risque, les VLB seront exprimées sous forme d'une échelle de 3 concentrations correspondant aux excès de risque individuel (ERI)  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$  (VLB basées sur des niveaux de risque). Lorsque les informations ne permettent pas de dériver des concentrations d'IBE correspondant à ces ERI, des VLB pragmatiques s'appuyant sur un effet autre que le cancer pourront être proposées. Elles n'auront pas pour objectif de fixer une valeur en dessous de laquelle il n'y a pas d'effet sanitaire, mais permettront aux préventeurs de disposer d'outils afin de limiter les expositions à ces substances sur les lieux de travail.

Les **valeurs biologiques de référence** peuvent être définies sur la base de valeurs retrouvées dans une population générale dont les caractéristiques sont proches de celles de la population française ou dans une population de témoins non professionnellement exposés à la substance étudiée. Ces valeurs ne peuvent être considérées comme protectrices de l'apparition d'effets sanitaires ; elles permettent une comparaison avec les concentrations d'indicateurs biologiques d'exposition et/ou d'effet mesurés chez des professionnels exposés. Les VBR, pour les indicateurs biologiques d'exposition sont construites préférentiellement à partir de données de population générale (imprégnation hors de toute exposition professionnelle à l'agent chimique considéré). D'autre part, les VBR, pour les indicateurs biologiques d'effet sont construites préférentiellement à partir de données de professionnels non exposés au polluant considéré (caractéristiques physiologiques similaires à la population cible).

Les méthodes analytiques décrites dans la littérature pour le dosage des IBE retenus sont également renseignées. L'objectif n'est pas de recommander une méthode pour le dosage mais de renseigner succinctement certains paramètres métrologiques spécifiques aux méthodes analytiques (limite de détection, limite de quantification et coefficient de variation sur les résultats...).

## Abréviations

ACGIH : American conference of governmental industrial hygienists  
CES : comité d'experts spécialisés  
COCT : Conseil d'Orientation sur les Conditions de Travail  
Cr : créatinine  
DEHP : diéthylhexyle phtalate  
DnBP : di-n-butyl-phtalate  
FSH : hormone folliculostimulante (follicule stimulating hormone en anglais)  
GT : groupe de travail  
IBE : indicateur biologique d'exposition  
IC : intervalle de confiance  
INRS : Institut national de recherche et de sécurité (France)  
LC-APCI-MS/MS : chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (ionisation chimique) (liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry with chemical ionisation en anglais)  
LC-ESI-MS/MS : chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (ionisation électrospray) (liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry with electrospray ionisation en anglais)  
LH : hormone lutéinisante (luteinizing hormone en anglais)  
LOAEL : dose minimale entraînant un effet néfaste observé (lowest observed adverse effect level en anglais)  
LOD : limite de détection (limit of detection en anglais)  
LOQ : limite de quantification (limit of quantification en anglais)  
MBzP : mono-benzyl-phtalate  
MCHP : monocyclohexyl-phtalate  
MCPP : mono-3-carboxypropyl-phtalate  
MEP : mono-éthyl-phtalate  
MEHP : mono-éthylhexyl-phtalate  
MEHHP : mono-2-éthyl-5-hydroxyhexyl-phtalate  
MEOHP : mono-2-éthyl-5-oxohexyl- phtalate  
MHBP : mono-3-hydroxy-n-butyl-phtalate  
MiBP : mono-isobutyl-phtalate  
MINP : mono-3-méthyl-5-diméthylhexyl-phtalate  
MMP : mono-méthyl-phtalate  
MnBP : mono-n-butyl-phtalate  
MOP : mono-n-octyl-phtalate  
NHANES : national health and nutrition examination survey  
NOAEL : No Observed Adverse Effect Level; dose maximale sans effet néfaste observé  
PBPK : physiologically based pharmacokinetic  
PM : poids moléculaire  
SHBG : sex hormone-binding globulin  
SPE : extraction en phase solide (solid-phase extraction en anglais)  
VBR : valeur biologique de référence  
VLB : valeur limite biologique  
VLCT : valeur limite court terme  
VLEP : valeur limite d'exposition professionnelle  
VME : valeur moyenne d'exposition

# 1 Données de cinétique et de toxicodynamie relatives à la substance chimique en cause

Les données sont essentiellement des données humaines ; lorsqu'elles ne le sont pas ceci est précisé dans le texte.

## 1.1 Absorption

### 1.1.1 Cutanée

Chez le rat, pour une dose appliquée de  $157 \mu\text{mol.kg}^{-1}$  environ 27% sont excrétés dans les urines et les fèces en 7 jours (Elsisi et al., 1989).

Les études *in vitro* ont montré que les flux d'absorption de phtalates (DnBP et DEHP) étaient plus importants avec de la peau de rat qu'avec de la peau humaine (Scott et al., 1987).

### 1.1.2 Pulmonaire

La voie d'absorption par inhalation n'a pas été décrite dans la littérature, que ce soit chez l'animal ou l'Homme.

A 20° C, le BBzP est peu volatil.

L'exposition peut provenir d'aérosols générés lors de la production ou de l'usage de produit contenant du BBzP<sup>11</sup> (CE, 2007).

### 1.1.3 Digestive

Les expériences chez le rat avec du BBzP radiomarqué ont montré que 61 à 74 % de la dose est retrouvée dans l'urine en 24 heures, ce qui présuppose une absorption orale rapide et importante (du moins entre 2 et 200  $\text{mg.kg}^{-1}$ ). Pour une dose de 2 000  $\text{mg.kg}^{-1}$ , 22 % de la dose était absorbée suggérant un phénomène de saturation aux fortes doses (Eigenberg et al., 1986).

## 1.2 Distribution

Il existe peu d'informations sur la distribution dans l'organisme du BBzP.

Il n'y a pas d'indication d'une quelconque accumulation dans les tissus.

Le BBzP non métabolisé n'est pas retrouvé dans la bile chez le rat, contrairement à ses monoesters libres ou conjugués. Il est mesurable à des taux très faibles dans le sang ou le sérum de femmes (ayant accouché récemment). Chez ces mêmes femmes (n = 42), du BBzP peut être mesuré dans le lait maternel mais son métabolite le mono-benzyle phtalate (MBzP) n'y est quasiment pas détectable (Hogberg et al., 2008).

---

11

*Produits portés à des températures élevées ou utilisation de la technique de pulvérisation en milieu professionnel*

### 1.3 Métabolisation

Chez l'Homme la seule étude qui permette de caractériser le métabolisme du BBzP est celle d'Anderson (2001) dans laquelle des volontaires (8 par groupe, 2 groupes exposés et un groupe témoin) ingèrent des quantités déterminées de phtalates marqués par un isotope stable ( $^{13}\text{C}$ -DBP,  $^{13}\text{C}$ -DIOP,  $^{13}\text{C}$ -DEHP,  $d_4$ -BBzP). En suivant l'excrétion des métabolites dans l'urine, Anderson et al. (2001) montrent ainsi que 67 et 78% du BBzP administré sont retrouvés dans l'urine sous forme de MBzP, pour respectivement des doses de 253 et 506  $\mu\text{g}$ , alors que seulement 6% (pour la plus forte dose) sont retrouvés sous forme de MnBP (le MnBP n'est pas détecté dans les urines pour la dose la plus faible d'exposition).

L'excrétion urinaire des métabolites s'effectuent essentiellement durant les premières 24 heures, indiquant un métabolisme rapide du BBzP ainsi qu'une élimination rapide dans les urines.

L'hydrolyse du BBzP produit majoritairement du butanol et du MBzP, ce dernier étant considéré comme un métabolite majeur et spécifique du BBzP.

Chez l'Homme, il semble que le phénomène de conjugaison à l'acide glucuronique soit un phénomène important et majoritaire puisque 7% du MBzP retrouvé dans l'urine est sous sa forme libre (Silva *et al.*, 2003). Les mêmes auteurs ne retrouvent pas de MBzP dans le sérum humain.

Chez le rat, le BBzP semble être rapidement dégradé en monoesters grâce aux estérases. Ces monoesters, le mono-n-butyl-phtalate (MnBP) et le mono-benzyl-phtalate (MBzP) peuvent ensuite être métabolisés, oxydés et conjugués à l'acide glucuronique.

L'hydrolyse primaire, dont les monoesters résultent, semble privilégier chez le rat la fonction benzyle, ce qui génère préférentiellement du MnBP (Sipes<sup>12</sup> cité par Agarwal et al., 1985). La majeure partie du BBzP administré par voie orale est ainsi dégradée sous forme de MnBP chez le rat (femelle). Dans l'urine : 29 à 34% des métabolites sont retrouvés sous forme de MnBP, 7 à 12% sous forme de MBzP et 51 à 56% sous forme d'acide hippurique (Nativelle et al., 1999). D'autres métabolites ont également été identifiés : le MnBP oxydé, l'acide phtalique ( $1 \pm 2\%$  et  $2 \pm 3\%$ , respectivement) et l'acide benzoïque détecté en très petites quantités (figure 1). Selon Eigenberg, 44% du BBzP administré à des rats (mâles) est retrouvé sous forme de MnBP et 16% sous forme de MBzP (Eigenberg et al., 1986). Suite à une injection intraveineuse de 20  $\text{mg.kg}^{-1}$  de [ $^{14}\text{C}$ ]BBzP, 53 à 58% de la dose administrée sont excrétés dans la bile en 4 heures sous formes de dérivés glucuro-conjugués du MnBP et MBzP (respectivement 26 à 13% de la dose) ou formes libres (2% et 14% de métabolites non identifiés) (Eigenberg et al., 1986). Ces métabolites peuvent ensuite subir un cycle entéro-hépatique pour être finalement excrétés dans l'urine. Eigenberg estime les demi-vies du BBzP et de ses mono-esters dans le sang à 10 minutes et 6 heures respectivement.

Chez la souris, Li et al., en 2007 ont identifié 6 métabolites : l'acide phtalique, le benzoyle glycolique (acide hippurique), le MnBP, le MBzP, le glucuronyl-MnBP, le glucuronyl-MBzP. Ils en déduisent ainsi que le BBzP est d'abord hydrolysé en acide phtalique, MnBP et MBzP. Une partie de l'acide phtalique peut ensuite être transformé en acide benzoïque par décarboxylation, celui-ci pouvant se conjuguer à la glycine pour donner du benzoyle glycolique. Le MnBP et le MBzP peuvent se conjuguer à l'acide  $\beta$ -D-glucuronique pour donner les dérivés glucuronyles (Li et al., 2007).

---

12

Communication personnelle

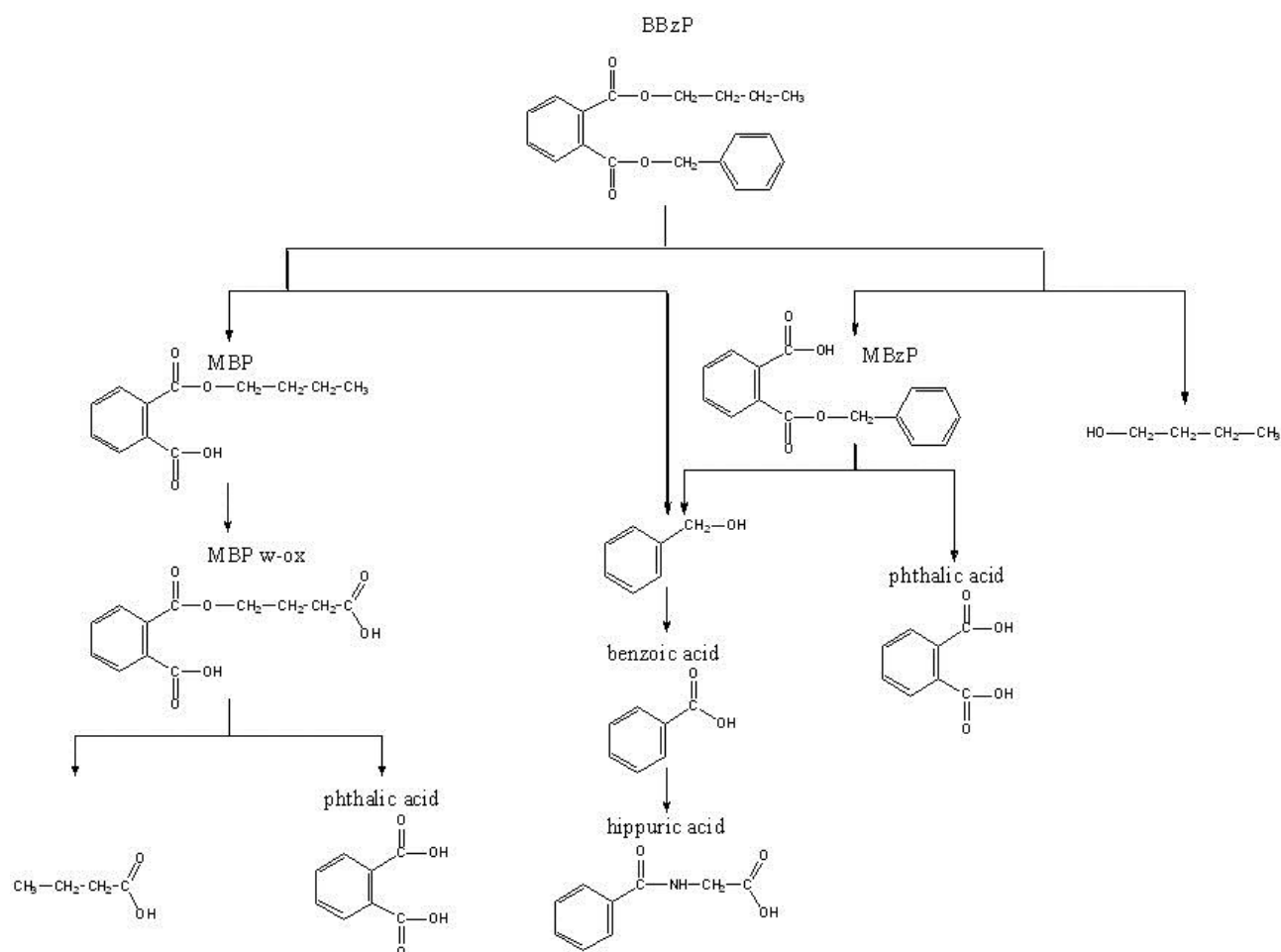


Figure 1 : Schéma métabolique chez le rat femelle (Wistar) proposé par Nativelle et al. (1999)

## 1.4 Excrétion

Chez l'Homme, l'excrétion urinaire semble la voie privilégiée. D'après les données de l'étude d'Anderson (2001), jusqu'à 84% de la dose de BBzP administrée peut être retrouvée dans l'urine sous forme des deux métabolites, le MBzP (essentiellement) et le MnBP. Les auteurs ont montré que l'excrétion du MBzP était largement majoritaire devant celle du MnBP avec 67 % et 78 % (fraction molaire, en fonction des doses administrées : 253 et 506  $\mu\text{g}$  respectivement) éliminés en 24 heures sous forme de MBzP. Alors que le MnBP libre et conjugué n'est pas retrouvé à la dose la plus faible, son excrétion ne représente que 6 % de la plus dose la plus élevée (fraction molaire).

Cette excrétion urinaire est rapide puisque la majorité des métabolites sont retrouvés en 24 heures.

Dans l'étude d'Hogberg et al., (2008) précédemment citée, le MBzP est retrouvé dans l'urine des femmes à une concentration médiane de  $13 \mu\text{g.L}^{-1}$  (moment de prélèvement non précisé). Hoppin et al., dosent aussi les phtalates chez des femmes américaines ( $n=46$ ) et retrouvent des niveaux urinaires un peu plus élevés (médiane de  $31 \mu\text{g.L}^{-1}$  sur les premières urines du matin) (Hoppin et al., 2002).

Niino et al., ne détectent ni de BBzP, ni de MBzP, dans la salive d'un volontaire (par GC-MS) (Niino et al., 2002). Silva et al., par contre, mesurent de fortes quantités de BBzP dans la salive de 39 volontaires (par HPLC-MS) (Silva et al., 2005).



Chez le rat, la voie principale d'élimination est l'urine lorsque les doses de BBzP administrées ne dépassent pas  $500 \text{ mg.kg}^{-1}$  (moins de 20% sont retrouvés dans les fèces). A plus haute dose, l'excrétion fécale devient majoritaire.

De même, le cycle entéro-hépatique joue un rôle très important chez le rat puisque 4 heures après injection intraveineuse, plus de la moitié du BBzP est retrouvé dans la bile sous forme de métabolites (Eigenberg et al., 1986). Dans la même étude, les auteurs montrent que chez le rat, en 24h, 61 à 74% du BBzP administré oralement à des doses de 2 à  $200 \text{ mg.kg}^{-1}$  sont retrouvés dans l'urine sous forme de monoesters (10 à 42% de la dose initiale) et de leurs formes glucuroconjuguées (2 à 21%) alors que 13 à 19% se retrouvent dans les fèces. A une dose de  $2\,000 \text{ mg.kg}^{-1}$ , un peu plus de la moitié de la dose de BBzP administrée est excrétée dans les fèces (57%) et seulement 16% dans les urines. Cette observation est indirectement confirmée par Nativelle et al., qui rapportent des taux d'excrétion urinaires plus faibles lorsque les doses administrées sont plus importantes (56% pour 150 à  $475 \text{ mg.kg}^{-1}$  et 30% pour  $1500 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) (Nativelle et al., 1999).

## 2 Identification des différents indicateurs biologiques d'exposition et indicateurs biologiques d'effets associés à la substance chimique

### 2.1 Indicateurs biologiques d'exposition disponibles

Nom de l'indicateur biologique d'exposition	Matrice de prélèvement
Mono-benzylphthalate (MBzP)	Urine
Mono-n-butyl-phthalate (MnBP)	Urine

#### 2.1.1 Informations générales

Nom	MONO-BENZYL-PHTALATE (MBZP) URINAIRE
Autres substances produisant cet IBE	Non renseigné (NR)
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires	<p>Etudes de terrain (Hines 2009 ; Martens 2002): Exposition NR – différents secteurs d'activité [MBzPu] en fin de poste : de &lt;LD a 438 <math>\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}</math> créatinine (cr)</p> <p>Etudes sur volontaires : Anderson et al. (2001) - Exposition par voie orale - 253 <math>\mu\text{g}</math> de BBzP : 140 <math>\mu\text{g}</math> de MBzP.24h<sup>-1</sup> - 506 <math>\mu\text{g}</math> de BBzP : 323 <math>\mu\text{g}</math> de MBzP.24h<sup>-1</sup></p>
Facteur de conversion	<p>Poids moléculaire (PM) : 256,26 1 <math>\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}</math> = 0,004 <math>\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}</math> 1 <math>\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}</math> = 256,26 <math>\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}</math> 1 <math>\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}</math> cr = 0,44 <math>\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}</math> cr 1 <math>\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}</math> = 2,26 <math>\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}</math> cr</p>
Concentrations dans la population générale	<p>USA-NHANES (2009-2010)<sup>13</sup> - 95<sup>ème</sup> percentile : (20 ans et plus, 1914 échantillons) 39,6 <math>\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}</math> et 29,1 <math>\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}</math> cr (CDC, 2013)</p>
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	Aucune

<sup>13</sup>

National health and nutrition examination survey - Center for disease control (USA)

Nom	<b>MONO-N-BUTYL-PHTALATE (MnBP) URINAIRE</b>
Autres substances produisant cet IBE	Di-n-butyl-phthalate
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires	<u>Etudes de terrain (Hines 2009 ; Martens 2002) :</u> Exposition NR – différents secteurs d'activité [MnBPu] en fin de poste : de 2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ cr à 1 800 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ cr  <u>Etudes sur volontaires :</u> Anderson et al. (2001) - Exposition par voie orale - 253 $\mu\text{g}$ : non détecté - 506 $\mu\text{g}$ : 20 $\mu\text{g}\cdot 24\text{h}^{-1}$
Facteur de conversion	PM : 222,24 1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ = 0,004 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ = 222,24 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ cr = 0,51 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ cr 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ = 1,96 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ cr
Concentrations dans la population générale	USA-NHANES (2009-2010) - 95 <sup>ème</sup> percentile : (20 ans et plus, 1914 échantillons) 68,9 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ et 50,9 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ créat (CDC, 2013)
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	Aucune

### 2.1.2 Avantages et limites des indicateurs biologiques d'exposition identifiés

Analyte	Matrice	Avantages	Inconvénients
MBzP	Urine	Spécifique d'une exposition au BBzP  Données de terrain justifiant des prélèvements en fin de poste  Prélèvements non-invasifs	Peu de données exploitables en milieu professionnel
MnBP	Urine	Données de terrain justifiant des prélèvements en fin de poste  Prélèvements non-invasifs	Peu de données exploitables en milieu professionnel  Non spécifique de l'exposition au BBzP  Non décelable en lien avec l'exposition aux faibles doses de BBzP

### 2.1.3 Choix des indicateurs biologiques d'exposition identifiés comme pertinents pour le suivi biologique des expositions professionnelles

Deux métabolites sont détectables dans les urines chez l'Homme : le MBzP et le MnBP.

Le MnBP n'est pas détecté lors de faibles expositions et demeure peu détecté lors de fortes expositions uniques. En outre, il n'est pas spécifique d'une exposition au BBzP. En effet, il s'agit également d'un métabolite du DnBP. Par conséquent, il n'est pas retenu comme indicateur biologique d'exposition.

Le MBzP urinaire est le métabolite principal et spécifique du BBzP. De plus, il a une demi-vie compatible avec un prélèvement urinaire en fin de poste.

**Par conséquent le MBzP urinaire est le seul indicateur biologique d'exposition retenu pour le suivi des expositions au BBzP.**

## **2.2 Indicateurs biologiques d'effets disponibles**

Certains effets liés à l'exposition au BBzP, mais plus largement aux phtalates ont été étudiés notamment des effets sur la reproduction (modifications des niveaux hormonaux, altération de la qualité spermatique chez l'homme adulte, endométriose et léiomyome utérin chez la femme adulte) et le développement (réduction de la distance ano-génitale à la naissance chez des garçons de mères exposés à certains phtalates). Il n'est pas possible d'établir un lien de causalité entre l'exposition au BBzP et ces effets, sachant que toutes les études identifiées dans la littérature rapportaient des expositions complexes à des mélanges de phtalates. Par ailleurs, les études montrent rarement d'association statistique entre les éventuels marqueurs de reprotoxicité et les concentrations urinaires de MBzP.

Les résultats retrouvés ne permettent donc pas d'identifier un indicateur d'effet pertinent pour le suivi biologique.

### 3 Informations concernant les indicateurs biologiques d'exposition identifiés comme pertinents pour la surveillance biologique des professionnels exposés

Les experts du CES VLEP n'ont pas retenu d'étude épidémiologique pour la construction de la VLEP-8h par manque d'indications concernant les expositions dans ces études et ont souhaité retenir des études chez l'animal, en conditions contrôlées d'exposition. Ainsi, un effet critique (altération des organes reproducteurs et de la fertilité chez des rats mâles) transposable au travailleur a été identifié à partir d'une étude conduite sur une population de rats adultes. La VLEP-8h de  $13^{14}$  mg.m<sup>-3</sup> a été construite à partir d'un NOAEL chez l'animal (voie orale) de 200 mg.kg<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>.

#### 3.1 Données bibliographiques sur la corrélation entre les niveaux biologiques et les effets sur la santé pour chaque IBE identifié

##### 3.1.1 Effets sur la reproduction et le développement

###### 3.1.1.1 Etudes chez l'homme adulte

**Duty et al. (2003)** ont cherché les corrélations entre l'excrétion urinaire de métabolites du diéthylhexyle phtalate (DEHP), du di-n-butyl-phthalate (DnBP), du BBzP et la qualité des spermatozoïdes. Dans cette étude, 168 hommes ont été recrutés dans le Massachusetts lors d'une consultation pour analyse spermatique en raison d'une infertilité. L'étude utilise les critères de l'OMS pour évaluer la qualité des spermatozoïdes : concentration en spermatozoïdes (inférieure ou supérieure à 20 millions.ml<sup>-1</sup>), motilité des spermatozoïdes (moins ou plus de 50 % des spermatozoïdes mobiles) et morphologie des spermatozoïdes (moins ou plus de 4% des spermatozoïdes morphologiquement normaux). Un seul échantillon d'urine a été prélevé pour l'analyse des métabolites<sup>15</sup>. Les auteurs ont réalisé une première analyse des résultats (n = 168) sans exclure les hommes présentant des urines trop diluées ou trop concentrées (densité inférieure à 1,01 ou supérieure à 1,03) puis une seconde analyse en les excluant (n = 143). Les concentrations urinaires ont été ajustées ou non sur la densité urinaire (valeur de référence : 1,024) mais également sur l'âge des volontaires, la durée d'abstinence sexuelle et le tabagisme. Les résultats sont consignés dans le tableau de synthèse en annexe 1. Les auteurs rapportent les observations suivantes :

- la diminution de la concentration en spermatozoïdes est 2,8 fois plus fréquente chez les hommes présentant une concentration urinaire de MBzP supérieure à la médiane que chez les hommes présentant une concentration urinaire de MBzP inférieure (intervalle de confiance (IC95% : 1,1 – 7,0) mais ce résultat n'est pas confirmé lorsque les concentrations urinaires sont ajustées sur la densité (valeur de référence : 1,024) ou en excluant certains résultats (urines trop diluées ou trop concentrées) ;
- la diminution de la motilité des spermatozoïdes n'est pas significativement plus fréquente chez les hommes présentant une concentration urinaire de MBzP supérieure

14

La valeur de 5 mg.m<sup>-3</sup> initialement validée par le CES en date du 13 mai 2014 a été amendée suite à l'adoption postérieure en date du 07 mars 2016.

15

Mono-ethyl-phthalate MEP, mono-methyl-phthalate MMP, mono-éthylhexyl-phthalate MEHP, MBP, mono-benzyl-phthalate MBzP, mono-n-octyl-phthalate (MOP), mono-3-méthyl-5-diméthylhexyl-phthalate (MINP) et monocyclohexyl-phthalate (MCHP).

à la médiane que chez les hommes présentant une concentration urinaire de MBzP inférieure ;

- les altérations de la morphologie des spermatozoïdes ne sont pas plus fréquentes chez les hommes présentant des concentrations urinaires de MBzP ou de MnBP supérieures aux médianes que chez les hommes présentant des concentrations urinaires inférieures.

L'ajustement avec l'âge, la durée d'abstinence sexuelle et le tabagisme ne modifie en rien ces résultats.

Enfin, l'analyse a été affinée pour évaluer l'existence d'une relation dose-réponse entre les concentrations urinaires de MBzP ou de MnBP et les modifications des paramètres spermatiques (notamment la concentration en spermatozoïdes et leur motilité). Les auteurs ont mis en évidence une relation entre l'augmentation des concentrations de MBzP et la diminution des concentrations en spermatozoïdes qui devient significative lorsque les concentrations urinaires sont élevées et ajustées avec l'âge, l'abstinence sexuelle et le tabagisme. Ils n'ont pas mis en évidence de relation entre l'augmentation des concentrations de MBzP et la diminution de motilité des spermatozoïdes. Les résultats de l'analyse statistique sont rapportés dans le Tableau 3 et les concentrations de MBzP dans le Tableau 4.

**Tableau 3: Odds ratios (intervalle de confiance à 95%), ajustés (âge, durée d'abstinence sexuelle et tabagisme) ou non, pour les différents paramètres spermatiques en fonction des concentrations urinaires de MBzP (d'après Duty et al., 2003)**

Concentrations urinaires ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) ajustées sur la densité		Concentration spermatozoïdes			Motilité		
		OR <sup>16</sup> calculés en excluant les hommes présentant des urines trop diluées ou trop concentrées (N = 143)					
		n	Non-ajustés	Ajustés <sup>16</sup>	n	Non-ajustés	Ajustés
MBzP	0 – 5,50	5	1,0	1,0	18	1,0	1,0
	5,54 – 12,94	6	1,1 (0,3 – 4,1)	1,4 (0,3 – 6,0)	21	1,1 (0,5 – 2,5)	1,1 (0,5 – 2,8)
	13,04 – 540,24	11	3,0 (0,9 – 10,2)	<b>5,5</b> <b>(1,3 – 23,9)</b>	24	1,8 (0,8 – 4,3)	2,1 (0,8 – 5,3)
<b>Significativité (p)</b>			0,07	<b>0,02</b>		0,2	0,1

**Tableau 4 : Concentrations urinaires de MBzP (en  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) (d'après Duty et al., 2003)**

Concentrations urinaires de MBzP ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )						
Ajustées sur la densité urinaire, à l'exception des urines trop diluées ou concentrées						
N	min-max	5 <sup>ème</sup>	25 <sup>ème</sup>	50 <sup>ème</sup>	75 <sup>ème</sup>	95 <sup>ème</sup>
		Percentiles				
143	<LD - 540	1,8	4,2	9,3	14,8	32,8
Non ajustées sur la densité urinaire						
168	<LD - 450	1,2	4,0	10,3	18,3	49,6

Par la suite, **Duty et al. (2004)** ont cherché les relations entre l'excrétion urinaire de métabolite du DEHP, du DnBP, du BBzP et la concentration en spermatozoïdes, la motilité et la morphologie des spermatozoïdes (critères de l'OMS précédemment cités) et des paramètres spécifiques de la motilité des spermatozoïdes (vitesse linéaire  $\mu\text{m.sec}^{-1}$ , vitesse curvilinéaire  $\mu\text{m.sec}^{-1}$ , linéarité %). Dans cette étude, 222 hommes ont été recrutés dans le Massachusetts lors d'une consultation pour analyse spermatique en raison d'une infertilité. Un échantillon d'urine a été prélevé pour l'analyse des métabolites de phtalates cités dans l'étude de Duty et

<sup>16</sup>

OR : odd ratio ; les valeurs entre parenthèses correspondent aux bornes de l'intervalle de confiance à 95%, l'ajustement a été réalisé sur l'âge, la durée d'abstinence sexuelle et le tabagisme.

al. (2003). Les auteurs suggèrent une relation entre l'augmentation des concentrations urinaires de MBzP et des modifications des paramètres de la motilité (réduction de la vitesse linéaire et curvilinéaire), mais les résultats ne sont pas significatifs. En revanche ils n'expliquent pas la relation inverse trouvée entre les concentrations de MnBP et les paramètres de motilité (augmentation de la vitesse linéaire et curvilinéaire, non significative). Les concentrations urinaires de MBzP sont rapportées dans le Tableau 5.

**Tableau 5 : Concentrations urinaires de MBzP (en  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) (d'après Duty et al., 2004)**

Concentrations urinaires de MBzP ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )						
Ajustées sur la densité urinaire (1,024 comme valeur de référence)						
N	min-max	5 <sup>ème</sup>	25 <sup>ème</sup>	50 <sup>ème</sup>	75 <sup>ème</sup>	95 <sup>ème</sup>
		Percentiles				
220	<LD – 540,2	1,6	4,6	9,4	17,0	46,8
Non ajustées sur la densité urinaire						
220	<LD – 450,2	1,1	4,0	9,9	18,3	49,7

**Hauser et al. (2006)** ont complété l'étude de Duty et al. (2003) en intégrant plus de sujets afin d'augmenter la puissance de l'étude. Dans cette étude, 463 hommes (dont 168 issus de l'étude de Duty et al. (2003)) ont été recrutés dans le Massachusetts lors d'une consultation pour analyse spermatique en raison d'une infertilité. L'étude utilise également les critères de l'OMS pour évaluer la qualité des éjaculats comme Duty et al. (2003). Un seul échantillon d'urine est prélevé pour l'analyse des métabolites<sup>17</sup>. Les résultats ne montrent pas de relation dose-réponse entre l'excrétion urinaire des métabolites suivis et la diminution du nombre de spermatozoïdes par millilitre ou de leur motilité, sauf pour le MnBP.

A titre de comparaison, la médiane des concentrations urinaires de MBzP était de  $8,0 \mu\text{g.L}^{-1}$  avec une valeur maximale de  $540 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

**Tableau 6 : Concentrations urinaires de MBzP (en  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) (d'après Hauser et al., 2006)**

Concentration urinaire de MBzP ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )						
Concentrations ajustées à la densité urinaire (1,024 comme valeur de référence)						
N	min-max	5 <sup>ème</sup>	25 <sup>ème</sup>	50 <sup>ème</sup>	75 <sup>ème</sup>	95 <sup>ème</sup>
		Percentiles				
463	< LD - 540	0,9	4,2	8	15,5	40,6

**Jönsson et al. (2005)**, sur une population de 234 jeunes conscrits suédois (18 – 21 ans), n'observent pas d'association négative entre les concentrations urinaires de MBzP et les concentrations en spermatozoïdes contrairement à Duty et al. (2003) sur des couples infertiles, avec pourtant une valeur médiane en monoester plus élevée ( $16$  versus  $10,3 \mu\text{g.L}^{-1}$ ). De même, ils n'observent pas d'association positive entre les niveaux urinaires de MBzP et les niveaux sériques des hormones de la reproduction.

Dans une étude récente danoise, réalisée en population générale, auprès de 881 jeunes hommes (âge médian de 19,1 ans), **Joensen et al. (2012)** confirment ces résultats et ne mettent pas en évidence d'association positive ou négative entre les concentrations urinaires de MBzP (médiane :  $34 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) et les concentrations sériques des hormones de la reproduction et la qualité des spermatozoïdes.

Enfin, une étude réalisée par **Wirth et al. (2008)** aux Etats-Unis chez 45 hommes (de 23 à 48 ans ; 35 ans en moyenne) recrutés dans une clinique d'infertilité avait pour objectif de mettre en relation les expositions à certains phtalates à travers les concentrations urinaires de leurs

<sup>17</sup>

Mono-éthyl-phthalate MEP, mono-méthyl-phthalate MMP, mono-éthylhexyl-phthalate MEHP, MBP, mono-benzyl-phthalate MBzP et 2 métabolites oxydés du di-éthylhexyl-phthalate

métabolites<sup>18</sup> et d'éventuelles modifications des paramètres spermatiques. Dans cette étude, les paramètres spermatiques (concentration en spermatozoïdes, motilité des spermatozoïdes et morphologie) ont été étudiés selon les mêmes critères que ceux utilisés dans les études de l'équipe de Hauser. Après une analyse statistique des paramètres spermatiques au regard des concentrations urinaires de MBzP, les auteurs rapportent que les résultats pouvant indiquer une altération de la qualité spermatique n'étaient pas associés aux concentrations de MBzP. Les résultats de l'analyse statistique sont rapportés dans le tableau 7.

**Tableau 7: Odds ratios (intervalle de confiance à 95%), ajustés (âge, durée d'abstinence sexuelle et tabagisme) ou non, pour les différents paramètres spermatiques (d'après Wirth et al., 2008)**

	Diminution concentration en spermatozoïdes	Diminution motilité des spermatozoïdes	Altération morphologie des spermatozoïdes
Non ajusté	1,6 (0,5 – 5,8)	0,7 (0,2 – 2,5)	1,6 (0,5 – 5,6)
Ajusté	1,4 (0,3 – 6,3)	1,3 (0,3 – 5,5)	0,9 (0,2 – 3,2)

**Duty et al. (2005)** ont conduit une étude auprès de 295 hommes (recrutés entre 1999 et 2003), issus toujours de la même population d'étude que Duty et al. (2003) (recrutement dans le même laboratoire d'andrologie du Massachusetts). Ils ont mesuré les concentrations sériques de FSH, d'hormone lutéinisante (LH), de testostérone, d'inhibine B (marqueur précoce d'altération de la spermatogénèse selon les auteurs) et de SHBG (sex hormone-binding globulin) ainsi que les concentrations urinaires de métabolites (monoesters) de différents phtalates<sup>19</sup>. La médiane des concentrations urinaires de MBzP, non ajustées à la densité urinaire, était égale à 6,9 µg.L<sup>-1</sup> (5<sup>ème</sup> percentile : 0,9 et 95<sup>ème</sup> percentile : 37,1). Une analyse par régression multiple montre une association négative entre les concentrations de MBzP et de FSH. Ainsi, l'augmentation d'un interquartile des concentrations urinaires de MBzP est associée à une diminution de 10% (IC95% : -16,-4.0) de la concentration médiane de FSH de 7,3 IU.L<sup>-1</sup>. Mais selon les auteurs, il est difficile de savoir si ces résultats sont en rapport avec de réelles modifications hormonales ou s'ils résultent davantage de la réalisation de comparaisons multiples.

Il est à noter que d'autres études citées dans le rapport Inserm (2011) n'ont pas été rapportées ici dans la mesure où les expositions n'étaient pas évaluées par l'intermédiaire du dosage de biomarqueurs du BBzP ou qu'elles ne concernaient pas la population d'intérêt.

### 3.1.1.2 Etudes chez la femme adulte

**Itoh et al., (2009)** ont cherché les relations entre les concentrations urinaires de métabolites du DEP, DEHP, DnBP et BBzP et le degré de sévérité d'endométriose. Cent trente-sept femmes en âge de procréer ont été retenues pour cette étude parmi les 166 qui ont été recrutées lors d'une consultation pour infertilité dans un hôpital universitaire de Tokyo. Une laparoscopie a été effectuée chez ces patientes pour diagnostiquer une éventuelle endométriose et indiquer sa sévérité (5 stades de 0 à IV définis sur la base de la classification de l'American Fertility Society). Cet examen a été réalisé avant le prélèvement d'un échantillon d'urine (premières urines du matin) pour l'analyse des métabolites<sup>20</sup>. Les auteurs ont considéré comme témoins les patientes non atteintes et celles atteintes d'une endométriose de stade I. Les cas regroupent les patientes atteintes d'une endométriose de stade II, III ou IV. La médiane des concentrations urinaires de MBzP était plus élevée chez les cas que chez les témoins (la significativité

<sup>18</sup> MEP, MnBP, MBzP, le mono-isobutyl-phthalate (MIBP), mono-éthylhexyl-phthalate MEHP, mono-2-éthyl-5-oxohexyl-phthalate (MEOHP), mono-2-éthyl-5-hydroxyhexyl-phthalate (MEHHP), MCPP et MMP.

<sup>19</sup> Mono-éthyl-phthalate MEP, mono-éthylhexyl-phthalate MEHP, MnBP, mono-benzyl-phthalate MBzP et mono-méthyl-phthalate MMP.

<sup>20</sup> Mono-éthyl-phthalate MEP, mono-éthylhexyl-phthalate MEHP, mono-n-butyl-phthalate MnBP, mono-benzyl-phthalate MBzP, mono(2-éthyl-5-hydroxyhexyl) phthalate MEHHP, et mono(2-éthyl-5-oxohexyl) phthalate MEOHP.



statistique n'a pas été rapportée). Les auteurs rapportent qu'une analyse par régression logistique ne montre pas d'association entre concentrations urinaires de MBzP et endométriose. Par ailleurs, aucune relation dose-réponse n'a été mise en évidence entre les concentrations urinaires de MBzP et la sévérité de l'endométriose (tableau 8).

**Tableau 8: concentrations urinaires de MBzP (en  $\mu\text{g.L}^{-1}$  et  $\mu\text{g.g}^{-1}$  créat ) et odds ratios (intervalle de confiance à 95%), ajustés (sur la régularité et la durée moyenne des cycles menstruels) ou non, pour l'endométriose (Itoh et al., 2009)**

	Témoins (Stade 0 et I endométriose) (n= 80)	Cas (Stade II à IV endométriose) (n=50)	OR non ajusté	OR ajusté <sup>21</sup>
Concentrations urinaires de MBzP Médiane (25 <sup>ème</sup> - 75 <sup>ème</sup> percentile)				
$\mu\text{g.L}^{-1}$	3,2 (1,5 – 6,5)	3,9 (2,3 – 7,0)	1,71 (0,86 – 3,43)	1,62 (0,76 – 3,44)
$\mu\text{g.g}^{-1}$ de créat	1,8 (1,0 – 3,3)	2,1 (1,3 – 3,2)	1,38 (0,69 – 2,73)	1,38 (0,65 – 2,91)

**Weuve et al. (2010)** ont réalisé une étude transversale dont l'objectif était de rechercher les relations entre les concentrations urinaires de métabolites de phtalates (MEHP, MnBP, MEP et MBzP) et les antécédents d'endométriose et de léiomyome utérin rapportés parmi les 1227 femmes âgées de 20 à 54 ans, examinées dans le cadre de l'enquête nationale américaine NHANES (de 1994 à 2004). Les concentrations urinaires de métabolites de phtalates ont été ajustées sur la créatinine. Les auteurs ne rapportent pas d'association entre les concentrations urinaires de MBzP et endométriose ou léiomyome utérin. Les résultats sont rapportés dans le Tableau 9.

**Tableau 9 : Concentrations urinaires de MBzP (en  $\text{ng.mg}^{-1}$  de créatinine) et odds ratios (intervalle de confiance à 95%) pour endométriose, léiomyome utérin et endométriose ou léiomyome utérin**

Concentrations urinaires (ng.mg <sup>-1</sup> de créatinine) de MBzP	OR endométriose		OR léiomyome utérin		OR endométriose ou léiomyome utérin	
	Cas/n		Cas/n		Cas/n	
0,2– 7,7	23/306	1 (référence)	37/306	1 (référence)	48/306	1 (référence)
7,8 – 13,1	19/306	0,84 (0,37 – 1,89)	36/302	1,11 (0,59 – 2,07)	47/302	1,01 (0,55 – 1,83)
13,2 – 23,2	23/309	1,17 (0,47 – 2,94)	47/309	1,16 (0,64 – 2,13)	61/309	1,25 (0,70 – 2,24)
23,3, – 650	22/306	1,17 (0,42 – 3,27)	31/304	1,14 (0,54 – 2,39)	45/304	1,27 (0,59 – 2,72)
Significativité (p)	0,6		0,8		0,5	

### 3.1.1.3 Etudes chez le nouveau-né et l'enfant (en relation avec les expositions de la mère)

Les résultats d'une étude de cohorte ayant pour objectif d'évaluer la toxicité de certains phtalates sur le développement foetal ont été publiés par **Swan et al. (2005)** et **Swan et al. (2008)** et sont rapportés dans le rapport du CES VLEP. Dans sa construction de valeur limite, le CES VLEP a jugé que ce type d'effets ne pouvait être écarté. Swan *et al.* 2005 ont montré principalement une réduction de l'index ano-génital (AGI), définie comme une réduction de la distance ano-génitale (AGD) pondérée par le poids des jeunes enfants suivis (2 à 36 mois)

<sup>21</sup>

OR : odd ratio ; les valeurs entre parenthèses correspondent aux bornes de l'intervalle de confiance à 95%, l'ajustement a été réalisé sur la régularité des cycles menstruels et la durée moyenne du cycle menstruel

significativement associée à une augmentation des concentrations urinaires de MBzP (mais également d'autres mono-esters de phtalates dont le MnBP) chez les mères.

Une réduction de la distance ano-génitale était 3 fois plus fréquente (faible significativité) chez les nouveau-nés de sexe masculin des mères présentant des concentrations urinaires de MBzP supérieures à  $3,5 \mu\text{g.L}^{-1}$  et 4 fois plus fréquente lorsque les concentrations urinaires de MBzP étaient supérieures à  $23,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ . La relation dose réponse est présentée dans le tableau 10.

**Tableau 10 : Odds ratios (intervalle de confiance à 95%) pour la diminution de la distance ano-génitale en fonction des concentrations urinaires maternelles de MBzP (d'après Swan et al., 2005)**

Concentrations MBzP $\mu\text{g.L}^{-1}$	n	OR– diminution de la distance anogénitale	Référence
< 3,5	85	1,0	Swan et al. (2005)
≥ 3,5 et < 23,5		<b>3,1 (1,002 – 9,8)</b>	
≥ 23,5		<b>3,8 (1,03 – 13,9)</b>	

En revanche, l'étude de Swan et al., 2008, avec un effectif plus important (n=106), n'a pas mis en évidence d'association entre les concentrations urinaires de MBzP chez les mères et une réduction de la distance anogénitale chez les nouveau-nés de sexe masculin. Mais les résultats de cette dernière étude sont difficilement exploitables dans la mesure où les concentrations urinaires de MBzP ne sont pas rapportées.

**Marsee et al. (2006)** ont estimé à l'aide de la formule de Kohn *et al.* (2000) (annexe 2), les doses journalières (DJ) des 214 femmes enceintes suivies par Swan *et al.* (2005). La médiane et le 95<sup>ème</sup> percentile des DJ calculées pour le MBzP sont respectivement de l'ordre de 0,50 et  $2,47 \mu\text{g.kg.j}^{-1}$ , c'est-à-dire pour la médiane environ deux ordres de grandeur plus bas que la dose de référence américaine (US EPA 2005). Les multi-expositions environnementales mesurées chez ces femmes enceintes et leurs effets cumulatifs éventuels sont évoqués pour expliquer les effets sur le développement des enfants de ces mères mis en évidence par Swan *et al.* (2005). La question de la pertinence des doses de référence issues de l'expérimentation animale est également posée.

### 3.1.2 Autres effets

Dans une étude réalisée à partir des résultats de l'enquête nationale américaine NHANES, **Stahlhut et al. (2007)** avait mis en évidence, chez des adultes mâles, des relations significatives positives entre les concentrations urinaires de certains métabolites de phtalates et d'une part, la résistance à l'insuline (trouble métabolique impliqué dans le diabète) d'autre part, l'obésité abdominale. Ces deux relations concentrations urinaires – résistance à l'insuline et obésité abdominale sont observées pour le MBzP (également les MEHHP, MEOHP et MEP). Les auteurs de l'étude concluent que ces résultats méritent d'être confirmés par d'autres études longitudinales.

## 3.2 Données bibliographiques sur la corrélation entre l'exposition (atmosphérique et cutanée) et les niveaux biologiques observés pour chaque IBE identifié

Aucune étude de terrain n'a examiné la corrélation entre l'exposition par inhalation et les niveaux biologiques de MBzP urinaire.

Une seule étude professionnelle s'intéressant spécifiquement à l'exposition au BBzP a été identifiée (Martens et Martens, 2002). L'objectif de ce travail était, selon les auteurs, de

proposer une technique permettant de mesurer en routine les métabolites urinaires du BBzP. Ils ont ainsi mesuré par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse le MBzP et le MnBP dans les urines de 3 ouvriers de l'industrie du PVC. Les échantillons d'urine ont été prélevés pendant 5 jours en fin de journée de travail (et le 1<sup>er</sup> jour avant le début de la journée) ainsi qu'au début de la semaine suivante. Les travailleurs sont suspectés avoir été exposés aussi bien par inhalation à des vapeurs de BBzP que par contact cutané (aucune mesure d'exposition atmosphérique n'a été effectuée). Les valeurs présentées dans le tableau ci-dessous sont celles des métabolites totaux, après hydrolyse du glucuronide. La technique utilisée n'est pas optimale (par exemple limite de détection à 60 µg.L<sup>-1</sup> contre 0,25 µg.L<sup>-1</sup> pour les autres études).

Les auteurs ne discutent pas les niveaux excrétés en métabolites urinaires, ni de leurs variations en cours de semaine.

Les niveaux excrétés en MBzP urinaire ne semblent pas traduire une exposition des salariés au seul BBzP.

**Tableau 11 : Concentrations urinaires de MBzP<sup>22</sup> chez des travailleurs de l'industrie du PVC (d'après Martens et Martens, 2002)**

Secteur d'activité	Jour	MBzP µg.L <sup>-1</sup> (µg.g <sup>-1</sup> créatinine)
Préparation de PVC plastifié avec du BBzP, analyse qualité, analyse de l'inflammabilité de certains produits (dalles de sols plastifiées) Exposition aussi bien par inhalation que par contact cutané (n=3)	1 am	< LD (< LD) 75 (70) < LD (< LD)
	1 pm	< LD (< LD) 230 (210) < LD (< LD)
	2 pm	150 (150) 250 (235) < LD (< LD)
	3 pm	125 (278) 220 (167) 120 (228)
	4 pm	500 (373) 1020 (560) 120 (85)
	5 pm	245 (186) 465 (381) < LD (< LD)
	8 pm	< LD (< LD) 180 (126) < LD (< LD)

am : matin ; pm : après-midi ; LD : limite de détection

Hines et al. (2009) ont dosé 9 monoesters<sup>23</sup> de phtalates, parmi lesquels le MBzP métabolite du BBzP, le MnBP et un métabolite secondaire, le mono-3-carboxypropyl-phtalate, (MCP) du DnBP dans les urines de milieu et fin de poste de 155 salariés exposés à différents phtalates et travaillant dans 8 secteurs industriels différents entre 2003 et 2005. Comme aucune mesure n'a été réalisée sur des travailleurs non exposés, les niveaux mesurés chez les exposés ont été

<sup>22</sup>

Mesures individuelles

<sup>23</sup>

MBP et mono-3-carboxypropyl-phtalate MCP, MBzP, mono-méthyl-phtalate MMP, mono-éthyl-phtalate MEP, mono-éthylhexyl-phtalate MEHP, mono(2-ethyl-5-hydroxyhexyl) phtalate MEHHP, mono(2-ethyl-5-oxohexyl) phtalate MEOHP, mono(2-ethyl-5-carboxypentyl) phtalate MECPP, mono-isobutyl-phtalate MiBP et le mono-n-octyl-phtalate MOP.

comparés à ceux rencontrés dans la population générale américaine (NHANES 2001-2002). Les auteurs rapportent que les moyennes géométriques des concentrations de MBzP sont les plus élevées dans les secteurs du caoutchouc (bottes et joints) et observent des différences significatives entre milieu de poste et fin de poste dans ces deux secteurs mais également dans les salons de manucure (données rapportées à la créatinine) bien que ces secteurs n'utilisent pas de BBzP. Les concentrations urinaires de MBzP dans le secteur des joints caoutchouc sont du même ordre de grandeur que celles mesurées par Martens dans l'industrie de PVC (Martens et Martens, 2002). Dans les secteurs films PVC, bottes et joints de caoutchouc, salons de manucure les moyennes géométriques des concentrations urinaires de MBzP sont significativement plus élevées que celles rencontrées en population générale américaine, attestant d'une exposition professionnelle. La moyenne géométrique mesurée dans le secteur des joints de caoutchouc à  $70,1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de créatinine est ainsi 5,8 fois supérieure à la moyenne géométrique environnementale de  $12,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de créatinine. Pour les secteurs des bottes en caoutchouc et les filtres automobile, ce rapport est de 3,4 et 1,4 respectivement.

Les concentrations urinaires de MBzP sont présentées dans le tableau 12.

**Tableau 12 : Concentrations urinaires de MBzP chez des travailleurs de différents secteurs (d'après Hines et al., 2009)**

Secteurs	n	MBzP Moyenne géométrique (écart-type géométrique) <b>Médiane</b> (minimum - maximum)	
		$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ créatinine
<b>Milieu de poste</b>			
Production phtalates	9	19,4 (1,99) <b>21,6</b> (7,10 – 44,5)	11,8 (1,55) <b>9,10</b> (7,71 – 21,2)
Fabrique films PVC	25	33,0 (2,18) <b>33,5</b> (6,90 – 130)	15,8 (1,92) <b>14,0</b> (4,21 – 50,8)
Filtres automobile	18	20,9 (1,83) <b>22,8</b> (5,10 – 70,4)	17,6 (1,79) <b>15,8</b> (8,92 – 87,1)
Fabrique composants PVC	12	21,6 (2,29) <b>17,6</b> (6,90 – 119)	13,4 (2,19) <b>15,0</b> (5,38 – 51,9)
Tuyaux caoutchouc	25	14,7 (2,18) <b>15,8</b> (2,90 – 66,3)	10,6 (1,95) <b>10,0</b> (2,82 – 37,2)
Bottes caoutchouc	21	42,7 (2,80) <b>39,3</b> (3,80 – 207)	32,2 (2,00) <b>33,6</b> (5,85 – 127)
Joints caoutchouc	20	74,2 (4,03) <b>101</b> (5,20 – 747)	48,2 (4,53) <b>107</b> (4,03 – 272)
Salons manucure	25	1,78 (8,37) <b>1,80</b> (< LD – 32,1)	2,24 (5,16) <b>2,78</b> (< LD – 29,4)
<b>Fin de poste</b>			
Production phtalates	9	37,7 (6,15) <b>25</b> (5,00 – 736)	19,8 (5,27) <b>12,6</b> (2,20 – 386)
Fabrique films PVC	25	28,0 (2,49) <b>31,5</b> (3,10 – 156)	14,9 (1,90) <b>15,8</b> (3,16 – 68,8)
Filtres automobile	18	21,6 (2,46) <b>21,0</b> (4,10 – 71,6)	17,0 (1,94) <b>17,3</b> (5,81 – 49,8)
Fabrique composants PVC	12	35,6* (2,39) <b>32,4</b> (12,0 – 170)	17,9 (2,14) <b>21,8</b> (6,96 – 61,1)
Tuyaux caoutchouc	25	16,1 (1,96) <b>16,7</b> (4,60 – 54,6)	10,0 (1,99) <b>10,6</b> (2,37 – 32,7)
Bottes caoutchouc	21	69,2** (2,97) <b>74,4</b> (5,30 – 473)	40,4* (2,09) <b>32,2</b> (10,2 – 125)
Joints caoutchouc	20	115,0*** (4,13) <b>167</b> (11,5 – 689)	70,1*** (4,42) <b>139</b> (5,11 – 438)
Salons manucure	25	3,45 (5,98) <b>5,80</b> (< LD – 54)	4,59* (3,78) <b>4,61</b> (< LD -90)

\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$

En milieu environnemental, Adibi et al. (2008) ont mesuré les concentrations urinaires des métabolites (monoesters) de 5 phtalates (BBzP, DnBP, DEP, DEHP et DiBP) chez 246 femmes enceintes (3<sup>ème</sup> trimestre). Des prélèvements atmosphériques individuels sur 48 heures et des prélèvements d'ambiance sur 2 semaines répétés trois fois ont également été réalisés. Les urines étaient prélevées toutes les 48 heures et toutes les deux semaines. Pour le BBzP, contrairement aux autres phtalates, une forte corrélation entre les niveaux atmosphériques (ambiants et individuels) et les concentrations urinaires de MBzP (6 semaines et 48 heures) est rapportée avec respectivement des coefficients de corrélation de 0,71 et 0,48 ( $p < 0,0001$ ). Cependant, les auteurs ne rapportent pas d'équations de régression. L'existence d'une corrélation entre les concentrations urinaires de MBzP et les concentrations atmosphériques de BBzP (faibles expositions environnementales) suggère qu'une VLB basée sur les

concentrations atmosphériques pourra être établie lorsque les données seront disponibles dans la littérature.

A partir des niveaux urinaires de MBzP et de MnBP rapportés en population générale chez 289 adultes (Blount et al., 2000b), Kohn et al., ont utilisé une équation de conservation de masse (annexe 2) pour estimer les doses journalières (DJ) en BBzP et DnBP des personnes suivies (Kohn et al., 2000). Pour le BBzP, la médiane des DJ est de l'ordre de  $0,88 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$  (95<sup>ème</sup> percentile = 4,0 et une étendue : 0,094 – 29). Les auteurs ont comparé les 95<sup>èmes</sup> percentiles obtenues chez les femmes en âge de procréer (n = 97) avec le reste de la population suivie et ne constatent pas de différence nette pour le BBzP (respectivement 4,5 et 3,4). Il est à noter que les paramètres cinétiques du BBzP et des métabolites ont été décrits pour une absorption par voie orale de 2 doses de BBzP et les fractions d'excrétion ont été rapportées sur 24h (Anderson et al. 2001).

Plus récemment, Hines et al., ont appliqué la même équation pour estimer les DJ chez des personnes professionnellement exposées (Hines et al., 2011). Pour cela, les auteurs reprennent leurs travaux réalisés dans 8 secteurs industriels chez 156 salariés et comparent les DJ calculées pour les 7 phtalates utilisés aux doses de référence établies par l'US EPA (2007) et l'EFSA (2005), respectivement RfDs et TDIs (Hines et al. 2009). Pour le BBzP, les DJ estimées varient de 0,02 à  $17 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$  avec une moyenne géométrique inférieure à  $3 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$  pour tous les secteurs visités. La plus haute valeur individuelle estimée ( $17 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$  dans le secteur des joints de caoutchouc) est à environ 10 % de la RfD américaine ( $200 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ ) et 5 % de la TDI européenne ( $500 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ ). Les auteurs précisent que le BBzP n'est pas censé être utilisé dans les secteurs industriels visités et que les valeurs estimées doivent être le reflet d'une exposition environnementale.

### 3.3 Facteurs pouvant influencer l'interprétation des résultats

MBzP URINAIRE	
Traitement médicamenteux	NR
Prise alimentaire	
Tabac	NR
Facteurs individuels physiologiques ou pathologiques	En population générale, niveaux plus élevés chez les femmes que chez les hommes, pas de différences ethniques aux Etats-Unis (Koch et al., 2003a ; Silva et al., 2004). Par ailleurs les résultats de l'enquête nationale américaine NHANES montrent que les concentrations urinaires de MBzP chez les enfants sont largement supérieures aux concentrations rapportées chez les adultes, avec un 95 <sup>ème</sup> percentile de $87,8 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ( $92,2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) chez les 6-11 ans contre $39,6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ( $29,1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) dans le groupe des plus de 20 ans (CDC, 2013)
Co-exposition à une ou plusieurs substance(s)	
Voie(s) d'exposition(s), description de la tâche	NR
Activité physique, effort, ...	NR
Fréquence et durée de l'exposition	NR

### 3.4 Modalités de prélèvement

#### 3.4.1 Moment du prélèvement

Le moment privilégié du prélèvement est la fin de la journée de travail ou période d'exposition.

### 3.4.2 Méthodes de prélèvement

Blount et al. excluent tout le petit matériel de laboratoire (tubes, cône, pipette etc.) en plastique de type PVC souple (Blount et al. 2000b). Bien que les tubes en polypropylène et en verre ne soient *a priori* pas susceptibles de contenir des phtalates, une sélection a été réalisée par dosage. Les niveaux mesurés dans ces blancs étaient généralement inférieurs à 0,5 % des niveaux mesurés dans les échantillons d'urine. Un niveau de blanc supérieur à 5 ppb conduisait aux rejets des résultats.

En revanche, une autre étude ne rapporte pas de phtalates pour des tubes en plastique (Hoppin et al., 2002).

### 3.4.3 Conservation, transport des prélèvements

Les échantillons urinaires doivent être congelés, après leur recueil, à – 20°C (Blount et al. 2000a) et – 70°C (Silva et al., 2008) pour une conservation de plusieurs années.

L'utilisation de flacons en polypropylène est préconisée car exempts de toute contamination par les phtalates (Blount et al. 2000a, Koch et al. 2003b).

## 4 Biométrie

Mono-benzyl-phthalate urinaire		
Contrôle qualité interlaboratoire	NR	
	Méthode 1	Méthode 2
Technique d'analyse	Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (ionisation électrospray) LC-ESI-MS/MS	Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (ionisation électrospray) LC-ESI-MS/MS
Limite de détection	NR	0,3 µg.L <sup>-1</sup>
Limite de quantification	0,5 µg.L <sup>-1</sup>	NR
Répétabilité et Fidélité intermédiaire	CV : 3,9 et 3,6 % à 9 µg.L <sup>-1</sup>	CV : 5,4 et 6,8 % à 73 µg.L <sup>-1</sup>
Justesse	NR	3 %
Etalon de référence	Solution standard : D <sub>4</sub> -MBzP	Solution standard : <sup>13</sup> C <sub>4</sub> -MBzP
Traitement avant analyse	Traitement 1h00 à 37°C à la β-glucuronidase <sup>24</sup> . Extraction SPE en ligne des métabolites.	Traitement 1h30 à 37°C à β-glucuronidase <sup>25</sup> . Extraction SPE en ligne des métabolites.
Références	Koch et al 2003b	Silva et al. 2007
Contrôle qualité interlaboratoire	Programme d'inter-comparaison (G-EQUAS) organisé par l'Université d'Erlangen-Nuremberg	
	Méthode 3	
Technique d'analyse	LC-ESI-MS/MS	
Limite de détection	NR	
Limite de quantification	0,2 µg.L <sup>-1</sup>	
Répétabilité et Fidélité intermédiaire	CV : 5,7 et 3,8 % à 100 µg.L <sup>-1</sup>	
Justesse	NR	
Etalon de référence	Solution standard : <sup>13</sup> C <sub>4</sub> -MBzP	
Traitement avant analyse	Traitement 1h30 à 37°C à la β-glucuronidase <sup>25</sup> . Injection directe de l'urine (10 µl).	
Références	Servaes et al. 2013	

<sup>24</sup>

β-glucuronidase d'Escherichia Coli, car sans activité lipasique sur les diesters de phtalate. Le contrôle de la dé-conjugaison est réalisé par incorporation dans les échantillons de 4-méthyl-umbelliferyl-glucuronide (<sup>13</sup>C<sub>4</sub>).



## 5 Construction des VLB et choix des valeurs biologiques de référence

### 5.1 Valeurs limites biologiques et valeurs biologiques de référence retenues

Les études épidémiologiques dans lesquelles le MBzP a été mesuré en relation avec des effets sanitaires concernent essentiellement la population générale.

#### Etudes chez l'homme adulte

Quatre publications (équipe de Hauser et collaborateurs) font référence à une étude transversale (consultation pour l'infertilité dans la même clinique) qui semble avoir été reproduite plusieurs fois en reprenant à chaque fois les résultats de la précédente étude. Cela permet certes d'augmenter l'effectif, mais de ce fait, les études ne sont pas indépendantes les unes des autres.

Les auteurs ont d'abord mis en évidence une diminution de la concentration en spermatozoïdes en lien avec l'augmentation des concentrations urinaires de MBzP, mais n'ont pas confirmé ce résultat lorsque l'effectif était augmenté, les concentrations urinaires de MBzP allant jusqu'à  $540 \mu\text{g.L}^{-1}$  (Duty et al., 2003 ; Duty et al., 2004 ; Hauser et al., 2006).

Par ailleurs, les auteurs ne trouvent pas de relation statistique entre l'augmentation des concentrations urinaires de MBzP et la diminution de motilité des spermatozoïdes (Duty et al., 2003 ; Hauser et al., 2006).

Avec les mêmes critères, une autre équipe (Wirth et al. 2008) confirment l'absence d'association entre concentrations urinaires de MBzP et modification des paramètres spermatiques au sein d'une cohorte d'hommes infertiles.

Concernant l'impact sur les niveaux des hormones de la reproduction, parmi 3 études identifiées dans la littérature (Duty et al., 2005 ; Jönsson et al., 2005 et Joensen et al., 2012), seule l'étude de Duty et al., montre une diminution des concentrations de FSH en lien avec une augmentation des concentrations urinaires de MBzP.

#### Etudes chez la femme adulte

Peu d'études ont évalué le rôle possible de l'exposition aux phtalates en lien avec la toxicité sur la reproduction chez les femmes. Les études de Weuve et al. (2009) et d'Itoh et al. (2009) ne montrent pas d'association entre les concentrations urinaires de MBzP et l'endométriose (ainsi que le léiomyome utérin pour l'étude de Weuve et al., (2009)).

#### Etudes chez le nouveau-né et l'enfant en relation avec l'exposition des mères

L'étude de Swan et al. (2005) montre une relation entre la réduction de la distance ano-génitale chez les nouveau-nés de sexe masculin et les concentrations de MBzP urinaires chez les mères. Au-dessus de  $23,5 \mu\text{g.L}^{-1}$  de MBzP urinaire chez la mère, la diminution de la distance ano-génitale était 4 fois plus fréquente chez les nouveau-nés de sexe masculin (Swan et al. 2005). En revanche, l'étude de Swan et al., 2008, avec un effectif plus important, n'a pas mis en évidence d'association entre les concentrations urinaires de MBzP chez les mères et une réduction de la distance ano-génitale chez les nouveau-nés de sexe masculin. Les concentrations urinaires de MBzP ne sont pas rapportées dans la publication de 2008.

En conclusion, les études chez l'humain (population générale) montrent rarement d'association statistique entre les paramètres de reprotoxicité et les concentrations urinaires de MBzP.

### Etudes chez les travailleurs

Par ailleurs aucune étude épidémiologique en milieu professionnel mettant en relation les concentrations urinaires de MBzP et la survenue d'effets sanitaires n'est disponible. Par conséquent il n'est pas possible, en l'état actuel des connaissances, de recommander une valeur limite biologique sur la base d'effets sanitaires.

Aucune étude de terrain ne met en relation les concentrations atmosphériques de BBzP et ses indicateurs biologiques d'exposition potentiels (notamment le MBzP). Il est donc également impossible de construire une VLB sur la base d'une exposition à la VLEP.

D'autre part le CES VLEP recommande une VLEP-8h à partir d'une étude animale (voie orale) pour laquelle la dose critique a été extrapolée (ajustement allométrique) à l'homme.

Les calculs proposés par Kohn et al. (2000) pourraient être utilisés pour extrapoler la dose par voie orale chez l'homme aux concentrations urinaires mais intègrent de trop nombreuses incertitudes. Les paramètres cinétiques du BBzP et des métabolites ont été décrits pour une absorption par voie orale de 2 doses de BBzP et les fractions d'excrétion ont été rapportées sur 24h (Anderson et al. 2001).

Il n'a donc pas été possible de construire une Valeur Limite Biologique pour le MBzP ni à partir d'études épidémiologiques basées sur des effets sanitaires, ni à partir d'études en milieu professionnel corrélant des concentrations atmosphériques aux concentrations urinaires.

### Proposition de valeurs biologiques de référence

Le MBzP est un polluant ubiquitaire entraînant une imprégnation de la population générale. Le MBzP est mesuré depuis 1999 dans la population générale aux Etats-Unis dans le cadre de l'enquête NHANES. Il n'existe pas de données françaises rapportant des niveaux urinaires de MBzP sur de grands effectifs en population générale. Les données américaines sont les seules disponibles pouvant servir à l'élaboration de valeurs biologiques de référence. Les données rapportées dans l'enquête nationale américaine NHANES montrent que les concentrations urinaires de MBzP varient significativement en fonction de l'âge. Ce critère a donc été retenu pour analyser les résultats de l'enquête NHANES. La catégorie des plus de 20 ans a été prise en compte parmi les classes d'âge renseignées.

Les échantillons urinaires collectés en 2009 et 2010 donnent une valeur pour le 95<sup>ème</sup> percentile de la distribution des concentrations urinaires du MBzP des hommes et des femmes âgés de plus de 20 ans égale à 39,6  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  ou 29,1  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  créat (CDC, 2013).

La concentration urinaire de 40  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  ou 30  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de créatinine pour le MBzP est proposée comme valeur biologique de référence.

## **5.2 Modalités et précautions particulières concernant les prélèvements biologiques pour chaque IBE retenu**

Les prélèvements peuvent être réalisés en fin de poste (reflet de la journée).

Les échantillons urinaires doivent être congelés, après leur recueil, à  $-20^{\circ}\text{C}$  (Blount et al. 2000a) et  $-70^{\circ}\text{C}$  (Silva et al. 2008) pour une conservation de plusieurs années.

L'utilisation de flacons en polypropylène est préconisée car exempts de toute contamination par les phtalates (Blount et al. 2000a, Koch et al. 2003b).

### 5.3 Données pouvant affecter l'interprétation des résultats

Le caractère ubiquitaire du BBzP dans l'environnement non professionnel (alimentation, cosmétiques, dalles plastifiées...) est certainement un facteur de variabilité des résultats des dosages urinaires de MBzP.

## 6 Conclusions de l'expertise collective

Les valeurs biologiques proposées pour le suivi de l'exposition au butylbenzyl-phthalate sont :

### Mono-benzyle phtalate urinaire

VLB basée sur un effet sanitaire	Aucune
VLB basée sur une exposition à la VLEP-8h	Aucune
Valeur biologique de référence	40 $\mu\text{g.L}^{-1}$ ou 30 $\mu\text{g.g}^{-1}$ de créatinine

**Date de validation du rapport d'expertise collective par le comité d'experts spécialisé :** le 12/05/2015

Maisons-Alfort, le

Au nom des experts du CES

« Expertise en vue de la fixation de valeurs limites à des agents chimiques en milieu professionnel »

M. Viau

Président du CES



## 7 Références bibliographiques

- Adibi JJ, Whyatt RM, Williams PL, et al. (2008) "Characterization of Phthalate Exposure among Pregnant Women Assessed by Repeat Air and Urine Samples" *Environ Health Perspect* 116(4): 467-73.
- Agarwal DK, Maronpot RR, Lamb JC and Kluwe WM. (1985). "Adverse effects of butyl benzyl phthalate on the reproductive and hematopoietic systems of male rats." *Toxicology* 35(3): 189-206.
- Anderson WA, Castle L, Scotter MJ, Massey RC and Springall C. (2001). "A biomarker approach to measuring human dietary exposure to certain phthalate diesters." *Food Addit Contam* 18(12): 1068-74.
- Blount BC, Milgram KE, Silva MJ, et al. (2000a). "Quantitative detection of eight phthalate metabolites in human urine using HPLC-APCI-MS." *Anal Chem*. 72: 4127-34.
- Blount BC, Silva MJ, Caudill SP, et al. (2000b). "Levels of seven urinary phthalate metabolites in a human reference population." *Environ Health Perspect* 108(10): 979-82.
- CDC. (2013). Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals, Updated tables. Atlanta: Center for Disease Control.
- CDC (2009). Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. Atlanta: Center for Disease Control.
- Duty SM, Calafat AM, Silva MJ, Ryan L and Hauser R. (2005). "Phthalate exposure and reproductive hormones in adult men." *Hum Reprod* 20(3): 604-10.
- Duty SM, Calafat AM, Silva MJ, et al. (2004). The relationship between environmental exposure to phthalates and computer-aided sperm analysis motion parameters. *J Androl*. 25(2):293-302.
- Duty SM, Silva MJ, Barr DB, et al. (2003). "Phthalate exposure and human semen parameters." *Epidemiology* 14(3): 269-77.
- EC (2007). European Union Risk assessment report. Benzyl Butyl Phtalate, volume 76. (European Commission, Luxembourg). 274 p.
- EFSA. (2005). Butylbenzylphthalate (BBP) for use in food contact materials. Parma: European Food Safety Authority.
- Eigenberg DA, Bozigian HP, Carter DE and Sipes IG. (1986). "Distribution, excretion, and metabolism of butylbenzyl phthalate in the rat." *J Toxicol Environ Health* 17(4): 445-56.
- Elsisi AE, Carter DE and Sipes IG. (1989). "Dermal absorption of phthalate diesters in rats." *Fundam Appl Toxicol* 12(1): 70-7.
- Fromme H, Bolte G, Koch HM, et al. (2007). "Occurrence and daily variation of phthalate metabolites in the urine of an adult population." *Int J Hyg Environ Health* 210(1): 21-33.
- Hauser R, Meeker JD, Duty S, Silva MJ, Calafat AM. (2006) "Altered semen quality in relation to urinary concentrations of phthalate monoester and oxidative metabolites". *Epidemiology*.;17(6):682-91.
- Hines CJ, Nilsen Hopf NB, Deddens JA, et al. (2009). "Urinary Phthalate Metabolite Concentrations among Workers in Selected Industries: A Pilot Biomonitoring Study." *Ann Occup Hyg* 53(1): 1-17.
- Hines CJ, Nilsen Hopf NB, Deddens JA, Silva MJ and Calafat AM. (2011). "Estimated daily intake of phthalates in occupationally exposed groups". *J Expo Sci Environ Epidemiology* 21: 133-141.
- Hogberg, J., A. Hanberg, M. Berglund, S. Skerfving, M. Remberger, A. M. Calafat, A. F. Filipsson, B. Jansson, N. Johansson, M. Appelgren and H. Hakansson (2008). "Phthalate

diesters and their metabolites in human breast milk, blood or serum, and urine as biomarkers of exposure in vulnerable populations." *Environ Health Perspect* 116(3): 334-9.

Hoppin, J. A., J. W. Brock, B. J. Davis and D. D. Baird (2002). "Reproducibility of urinary phthalate metabolites in first morning urine samples." *Environ Health Perspect* 110(5): 515-8.

IHCP. Benzyl butyl phthalate in 'European chemical substances information system' (ESIS). Available on website <http://esis.jrc.ec.europa.eu/> consulted 06-26-2013.

IFA. (2012). Benzyl butyl phthalate. In 'GESTIS – International limit values for chemical agents'. (Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung: Sankt Augustin, Germany). Available on website [http://www.dguv.de/ifa/en/gestis/limit\\_values/index.jsp](http://www.dguv.de/ifa/en/gestis/limit_values/index.jsp) consulted 06-26-2013.

IPCS (1999). "Concise international chemical assessment document 17 - butyl benzyl phthalate." Geneva, Switzerland: WHO.

Itoh H, Iwasaki M, Hanaoka T, Sasaki H, Tanaka T, Tsugane S (2009). "Urinary phthalate monoesters and endometriosis in infertile Japanese women". *Sci Total Environ* 408: 37-42.

Joensen UN, Frederiksen H, Jensen MB, et al. (2012). "Phthalate excretion pattern and testicular function: a study of 881 healthy Danish men". *Environ Health Perspect*. 120(10):1397-403. Epub 2012 Jul 23.

Jönsson BA., Richthoff J, Rylander L, Giwercman A and Hagmar L. (2005). "Urinary phthalate metabolites and biomarkers of reproductive function in young men." *Epidemiology* 16(4): 487-93.

Koch HM, Rossbach B, Drexler H and Angerer J. (2003a). "Internal exposure of the general population to DEHP and other phthalates--determination of secondary and primary phthalate monoester metabolites in urine." *Environ Res* 93(2): 177-85.

Koch HM, Gonzalez-Reche LM and Angerer J. (2003b). "On-line clean-up by multidimensional liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry for high throughput quantification of primary and secondary phthalate metabolites in human urine" *J. Chromatogr. B* 784:169-182.

Kohn MC, Parham F, Masten SA, Portier CJ, Shelby MD. (2000) "Human exposure estimates for phthalates". *Environ Health Perspect.*;108(10):440-2.

Li WL, Ji YB, Zhang DL and Fan YQ. (2007). "[Identification of metabolites of environmental hormone butylbenzyl phthalate in mice urine by liquid chromatography/ion trap mass spectrometry]." *Huan Jing Ke Xue* 28(3): 627-32.

Marsee K, Woodruff TJ, Axelrad DA, Calafat AM and Swan SH (2006). "Estimated Daily Phthalate Exposures in a population of Mothers of Male Infants Exhibiting Reduced Anogenital Distance" *Environ Health Perspect* 114(6): 805-9.

Martens F and Martens M. (2002). "[Determination of monoester metabolites of butylbenzyl phthalate (BBP) by GC-MS in the urine of exposed workers]." *Acta Clin Belg Suppl*(1): 16-23.

Nativelle C, Picard K, Valentin I, Lhuguenot JC and Chagnon MC. (1999). "Metabolism of n-butyl benzyl phthalate in the female Wistar rat. Identification of new metabolites." *Food Chem Toxicol* 37(8): 905-17.

Niino T, Ishibashi T, Itho T, et al. (2002). "Simultaneous determination of phthalate di- and monoesters in poly(vinylchloride) products and human saliva by gas chromatography-mass spectrometry." *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 780(1): 35-44.

Scott RC, Dugard PH, Ramsey JD and Rhodes C. (1987). "In vitro absorption of some o-phthalate diesters through human and rat skin." *Environ Health Perspect* 74: 223-7.

Servaes K, Voorspoels S et al. (2013) "Direct analysis of phthalate ester biomarkers in urine without preconcentration: Method validation and monitoring" *J. Chromatogr. A* 1294:25-32.

- Silva MJ, Barr DB, Reidy JA, et al. (2003). "Glucuronidation patterns of common urinary and serum monoester phthalate metabolites." *Arch Toxicol* 77(10): 561-7.
- Silva MJ, Barr DB, Reidy JA, et al. (2004). "Urinary levels of seven phthalate metabolites in the U.S. population from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-2000." *Environ Health Perspect* 112(3): 331-8.
- Silva MJ, Reidy JA, Samandar E, et al. (2005). "Detection of phthalate metabolites in human saliva." *Arch Toxicol* 79(11): 647-52.
- Silva MJ, Samandar E, Preau JL Jr, et al. (2007). Quantification of 22 phthalate metabolites in human urine. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 860(1):106-12.
- Silva MJ, Preau JL Jr, Needham LL, Calfat AM (2008). Cross validation and ruggedness testing of analytical methods used for the quantification of urinary phthalate metabolites *Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 873(2):180-6.
- Stahlhut RW, van Wijngaarden E, Dye TD, Cook S and Swan SH. (2007). "Concentrations of urinary phthalate metabolites are associated with increased waist circumference and insulin resistance in adult U.S. males." *Environ Health Perspect* 115(6): 876-82.
- Swan SH, Main KM, Liu F, et al. (2005). "Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure." *Environ Health Perspect* 113(8): 1056-61.
- Swan SH (2008). Environmental phthalate exposure in relation to reproductive outcomes and other health endpoints in humans. *Environ Res* 108: 177-184.
- US EPA. (2005) Integrated Risk Information System: Butyl Benzyl Phthalate. Washington DC: US Environmental Protection Agency. Available: <http://www.epa.gov/iris/subst/0293.htm> consulted 15 August 2005.
- Weuve J, Hauser R, Calafat AM, Missmer SA and Wise LA (2010) "Association of Exposure to Phthalates with Endometriosis and Uterine Leiomyomata: Findings from NHANES, 1999-2004". *Environ Health Perspect* 118(6): 825-32.
- Wirth JJ, Rossano MG, Potter R, et al. (2008) "A Pilot Study Associating Urinary Concentrations of Phthalate Metabolites and Semen Quality". *Systems Biology in Reproductive Medicine* 54: 143-154.





---

# ANNEXES

---

## Annexe 1 : Résultats des analyses d'association réalisées par Duty et al. (2003)

		MEP	MEHP	MBP	MBzP	MMP
OR <sup>25</sup> calculés pour l'ensemble des hommes (concentrations urinaires non ajustées)						
Concentration en spermatozoïdes	Non-ajusté	1,7 (0,7 - 4,0)	0,7 (0,3 - 1,8)	2,4 (1,0 - 5,9)	<b>2,8</b> <b>(1,1 - 7,0)</b>	2,4 (0,8 - 7,4)
	Ajusté	1,5 (0,6 - 3,8)	0,7 (0,3 - 1,8)	2,5 (1,0 - 6,6)	<b>3,1</b> <b>(1,2 - 8,4)</b>	2,2 (0,5 - 9,4)
Motilité	Non-ajusté	1,3 (0,7 - 2,4)	1,4 (0,7 - 2,6)	<b>2,4</b> <b>(1,3 - 4,7)</b>	1,8 (0,9 - 3,3)	2,1 (0,9 - 5,0)
	Ajusté	1,2 (0,6 - 2,3)	1,4 (0,7 - 2,6)	<b>2,3</b> <b>(1,2 - 4,6)</b>	1,7 (0,9 - 3,4)	2,0 (0,7 - 5,6)
Morphologie	Non-ajusté	0,9 (0,4 - 1,9)	1,1 (0,5 - 2,4)	1,9 (0,9 - 4,0)	1,9 (0,9 - 4,1)	3,1 (1,1 - 8,7)
	Ajusté	0,9 (0,4 - 1,9)	1,3 (0,6 - 2,8)	2,0 (0,9 - 4,4)	2,1 (0,9 - 4,6)	4,1 (1,1 - 15,6)
OR calculés pour l'ensemble des hommes (concentrations urinaires ajustées sur la densité urinaire)						
Concentration en spermatozoïdes	Non-ajusté	1,3 (0,5 - 3,1)	0,7 (0,3 - 1,7)	1,6 (0,7 - 3,8)	2,1 (0,8 - 5,9)	2,3 (0,7 - 7,3)
	Ajusté	1,2 (0,5 - 3,0)	0,7 (0,3 - 1,8)	1,8 (0,7 - 4,6)	2,6 (0,8 - 7,8)	1,8 (0,4 - 7,3)
Motilité	Non-ajusté	1,3 (0,7 - 2,5)	1,0 (0,5 - 1,9)	<b>2,0</b> <b>(1,1 - 3,9)</b>	1,5 (0,8 - 3,0)	1,2 (0,5 - 2,7)
	Ajusté	1,2 (0,6 - 2,4)	1,1 (0,6 - 2,1)	<b>2,1</b> <b>(1,1 - 4,0)</b>	1,5 (0,7 - 3,1)	0,8 (0,3 - 2,4)
Morphologie	Non-ajusté	0,9 (0,4 - 2,0)	0,8 (0,4 - 1,7)	1,5 (0,7 - 3,2)	1,1 (0,5 - 2,5)	2,3 (0,8 - 6,5)
	Ajusté	0,8 (0,4 - 1,8)	0,9 (0,4 - 1,9)	1,6 (0,8 - 3,5)	1,2 (0,5 - 2,7)	2,4 (0,7 - 8,3)
OR calculés en excluant les hommes présentant des urines trop diluées ou trop concentrées (concentrations urinaires ajustées sur la densité urinaire)						
Concentration en spermatozoïdes	Non-ajusté	1,1 (0,4 - 2,9)	1,1 (0,4 - 2,9)	2,2 (0,8 - 5,8)	1,8 (0,7 - 4,8)	2,3 (0,6 - 8,1)
	Ajusté	1,2 (0,4 - 3,4)	1,0 (0,3 - 2,9)	2,4 (0,8 - 7,2)	2,7 (0,8 - 8,5)	1,7 (0,4 - 7,9)
Motilité	Non-ajusté	1,3 (0,6 - 2,6)	1,4 (0,7 - 2,8)	<b>2,3</b> <b>(1,1 - 4,6)</b>	1,6 (0,8 - 3,1)	1,3 (0,5 - 3,4)
	Ajusté	1,1 (0,6 - 2,4)	1,4 (0,7 - 2,9)	<b>2,4</b> <b>(1,1 - 5,0)</b>	1,8 (0,9 - 3,9)	1,1 (0,4 - 3,3)
Morphologie	Non-ajusté	0,9 (0,4 - 2,1)	1,2 (0,5 - 2,6)	1,6 (0,7 - 3,5)	1,8 (0,8 - 4,0)	2,9 (0,9 - 9,3)
	Ajusté	0,9 (0,4 - 2,2)	1,2 (0,5 - 2,8)	1,7 (0,8 - 3,9)	2,1 (0,9 - 5,1)	3,2 (0,8 - 12,2)

25

OR : odd ratio ; les valeurs entre parenthèses correspondent aux bornes de l'intervalle de confiance à 95% ; l'ajustement a été réalisé sur l'âge, la fréquence des rapports sexuels et le tabagisme.

## Annexe 2 : Méthodes d'extrapolation : calcul de l'exposition au BBzP à partir d'une concentration urinaire de MBzP

Kohn et al. (2000) propose de réaliser le calcul de la dose d'exposition à partir des concentrations urinaires de MBzP (dans les urines de 24h) sur la base d'une équation de conservation de masse, telle que :

$$\text{Dose ingérée } (\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}) = \frac{[\text{MBzP}] \times \text{CE} \times \text{M}(\text{BBzP})}{f \times \text{M}(\text{MBzP})}$$

- CE : taux d'excrétion de créatinine normalisé sur le poids corporel ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ ) d'après Aylward et al. (2009) pour un homme de 70 kg 0,02
- f : fraction d'excrétion molaire du métabolite urinaire sur 24 heures d'après Anderson et al. (2001) – calculé pour une exposition voie orale 0,78 ou 0,67
- M(BBzP) : poids moléculaire du BBzP 312
- M(MBzP) : poids moléculaire du MBzP 256
- [MBzP] : concentration urinaire du MBzP ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{ créat.} 24\text{h}^{-1}$ )

## Annexe 3 : Consultation publique

Ce rapport a fait l'objet d'une consultation publique sur le site internet de l'Anses du 01/10/2014 au 01/12/2014.

Les personnes ou organismes suivants ont fait parvenir leurs commentaires lors de la phase de consultation :

---

- NIOSH (National institute for occupational safety and health ; USA)

## Annexe 4 : Suivi des actualisations du rapport

Date	Version	Description des modifications
13/12/2013	01	Validation par le CES avant consultation
12/05/2015	02	Version validée post-consultation (ajout pour signaler la procédure de consultation et ajout de précisions suite aux commentaires reçus).
15/11/2016	03	Version finale (version amendée pour intégrer la modification de la VLEP-8h)





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](http://www.anses.fr) / [@Anses\\_fr](https://twitter.com/Anses_fr)