

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  
di-n-butyl-phtalate (DnBP)

Avis de l'Anses  
Rapport d'expertise collective

Janvier 2017

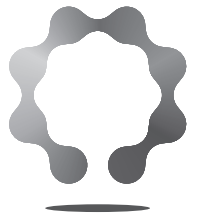
Édition scientifique





**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  
di-n-butyl-phtalate (DnBP)

Avis de l'Anses

Rapport d'expertise collective

Janvier 2017

Édition scientifique



Le Directeur général

Maisons-Alfort, le 13 janvier 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 di-n-butyl-phtalate (DnBP)  
(N° CAS : 84-74-2)**

---

*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 dispose, à travers une circulaire<sup>1</sup> d'une valeur moyenne d'exposition indicative dans l'atmosphère des lieux de travail pour le di-n-butyl-phtalate (DnBP) de 5 mg.m<sup>-3</sup>.

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 valeurs limites d'exposition professionnelle pour une vingtaine de substances dont le DnBP.

Cette saisine a été confiée au Comité d'Experts Spécialisé « Expertise en vue de la fixation de valeurs limites à des agents chimiques en milieu professionnel » (CES VLEP) qui, en décembre 2015, a finalisé un rapport<sup>2</sup> dans lequel il était notamment recommandé :

- de fixer une valeur limite d'exposition professionnelle-8h de 2 mg.m<sup>-3</sup> afin de prévenir sur les lieux de travail d'éventuels effets sur le développement fœtal de l'appareil reproducteur

---

<sup>1</sup> Circulaire du ministère du travail du 13 mai 1987 complétant et modifiant la circulaire du 19 juillet 1982 relative aux valeurs admises pour les concentrations de certaines substances dangereuses dans l'atmosphère des lieux de travail.

<sup>2</sup> Anses. (2015). Evaluation des effets sur la santé et des méthodes de mesure des niveaux d'exposition sur le lieu de travail pour le di-n-butyl-phtalate. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, Maisons-Alfort. 120 p.

mâle en lien avec une activité anti-androgénique du DnBP lors d'exposition in utero (atteintes testiculaires notamment) ;

- de ne pas dépasser 5 fois la valeur recommandée pour la VLEP-8h sur une période de 15 minutes (*i.e.* 10 mg.m<sup>-3</sup>) afin de limiter l'importance des niveaux d'exposition sur de courtes durées d'exposition ;
- de ne pas attribuer la mention « peau ».

L'Anses a souhaité compléter son expertise par l'évaluation des données de surveillance biologique en milieu professionnel pour le DnBP 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 spécialisé (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 di-n-butyl-phtalate (Mai 2015).

Le CES VLEP (mandature 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 01 octobre 2014 au 01 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

Trois indicateurs biologiques d'exposition au DnBP ont été identifiés dans la littérature scientifique. Il s'agit de trois métabolites du DnBP détectables dans l'urine chez l'Homme : le mono-n-butyl-phtalate [ou MnBP urinaire], le mono-3-hydroxy-n-butyl-phtalate [ou MHBP urinaire] et le mono-3-carboxypropyl-phtalate [ou le MCPP urinaire]. Les avantages et limites de chaque indicateur biologique ont été étudiés et un seul indicateur biologique d'exposition, le MnBP urinaire, a été retenu comme le plus pertinent pour le suivi biologique des expositions professionnelles au DnBP.

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 MnBP a été mesuré en relation avec des effets sanitaires concernent essentiellement la population générale.

Les résultats des études chez l'humain évoquent un effet reprotoxique du DnBP mis en évidence dans des études chez des hommes et des garçons. Si certains paramètres de reprotoxicité sont en lien avec les concentrations urinaires de MnBP, la plupart des résultats concernant l'altération de la qualité spermatique, sont issus d'une seule et même population d'étude et les autres paramètres de fertilité sont encore peu investigués. L'interprétation de ces résultats, et surtout le choix d'une éventuelle concentration critique de MnBP dans les urines, nécessiteraient des données complémentaires.

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

Il n'existe aucune étude réalisée en milieu professionnel rapportant à la fois des concentrations urinaires en MnBP et des concentrations atmosphériques en DnBP. Ceci ne permet donc pas d'établir une VLB basée sur une exposition à la VLEP-8h.

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 MnBP 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. En partant de l'hypothèse que les caractéristiques de la population américaine sont proches de celles de la population française, une concentration de 70  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  ou 50  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de créatinine pour le MnBP a été proposée comme valeur biologique de référence. Toutefois, il est à noter que les concentrations urinaires chez les femmes peuvent être plus élevées que chez les hommes.

Les experts du CES VLEP ont également rapporté, qu'outre les différences de concentrations attendues entre les hommes et les femmes, certains traitements médicamenteux peuvent être responsables d'une augmentation des concentrations urinaires de MnBP du fait de la présence de DnBP dans leur formulation (excipient).

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

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

La valeur biologique de référence (VBR) proposée pour le MnBP (mesuré dans l'urine) est de 70  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  ou 50  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  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 MnBP 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 DnBP étant classé toxique pour la reproduction R1B, la substitution des substances cancérogènes, 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>3</sup>», 12 démarches de substitution pour le DnBP sont disponibles<sup>4</sup> ;
- le principe « ALARA<sup>5</sup> » (aussi bas que raisonnablement possible) doit être appliqué.

Eléments 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 DnBP. Un document de l'ECHA<sup>6</sup> indique qu'en 2009-2010, l'utilisation de 4 phtalates dont le DnBP<sup>7</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 DnBP 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. Des autorisations<sup>8</sup> ont été délivrées par la Commission européenne. Ces autorisations sont délivrées pour une période fixe, l'objectif à terme restant la substitution. Tout usage autre<sup>9</sup> n'ayant pas fait l'objet d'une demande d'autorisation est de ce fait interdit en Europe.

Par ailleurs, le DnBP est inscrit à l'annexe XVII de REACH relative aux restrictions d'usage de certaines substances. Le DnBP 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 DnBP (ainsi que trois autres phtalates<sup>7</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**

<sup>3</sup> <http://www.substitution-cmr.fr/>

<sup>4</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>5</sup> As Low As Reasonably Achievable

<sup>6</sup> European Chemicals Agency. Opinion on an Annex XV dossier proposing restrictions on four phthalates: <http://echa.europa.eu/documents/10162/77cf7d29-ba63-4901-aded-59cf75536e06> (consulté le 22/07/2016)

<sup>7</sup> Les 3 autres phtalates sont le di(2-éthylhexyl)phtalate (DEHP), le benzylbutylphtalate (BBP), et le diisobutylphtalate (DIBP);

<sup>8</sup> Agence Européenne des Produits Chimiques (ECHA). Site de dissémination des données d'enregistrement <https://www.echa.europa.eu/addressing-chemicals-of-concern/authorisation/applications-for-authorisation-previous-consultations> (consulté le 20/12/2016)

<sup>9</sup> à l'exception des exemptions sectorielles prévues par le règlement REACH.



**MOTS-CLÉS**

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

Biological indicator of exposure, biomarker, limit values, exposure level, occupational, chemical agents, di-n-butylphthalate, biological limit values, expertise.



**anses**

agence nationale de sécurité sanitaire  
alimentation, environnement, travail



*Connaître, évaluer, protéger*

---

## **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  
di-n-butyl-phtalate (n° CAS 84-74-2)**

---

**Mission permanente VLEP  
Saisine n°2013-SA-0103**

## **RAPPORT d'expertise collective**

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

**Groupe de travail « Indicateurs biologiques d'exposition »**

**12 Mai 2015**

## Mots clés

---

Valeurs limites biologiques, indicateurs biologiques d'exposition, valeurs limites, niveaux d'exposition, milieu professionnel, agents chimiques, expertise, di-n-butyl-phtalate, phtalate de dibutyle.

## 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.

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

---

#### **Président**

M. Claude VIAU – Professeur (Université de Montréal) – Compétences : Toxicologie, IBE, hygiène industrielle, métrologie des polluants

#### **Membres**

Mme Michèle BERODE - Chimiste PhD (IST) – Compétences : IBE, métrologie des polluants ; 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 cancérogénèse

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 (IURST) (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 janvier 2013*



# SOMMAIRE

<b>Présentation des intervenants.....</b>	<b>2</b>
<b>Expertise collective : synthèse de l'argumentaire et conclusions .....</b>	<b>8</b>
<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>
1.1 Absorption .....	21
1.1.1 Cutanée .....	21
1.1.2 Pulmonaire.....	21
1.1.3 Digestive .....	21
1.2 Distribution .....	21
1.3 Métabolisation .....	22
1.4 Excrétion .....	22
<b>2 Identification des différents indicateurs biologiques d'exposition et indicateurs biologiques d'effets associés à la substance chimique.....</b>	<b>24</b>
2.1 Indicateurs biologiques d'exposition disponibles .....	24
2.1.1 Informations générales .....	24
2.1.2 Avantages et limites des indicateurs biologiques d'exposition identifiés .....	25
2.1.3 Choix des indicateurs biologiques d'exposition identifiés comme pertinents pour le suivi biologique des expositions professionnelles .....	25
2.2 Indicateurs biologiques d'effets disponibles .....	26
<b>3 Informations concernant les indicateurs biologiques d'exposition identifiés comme pertinents pour la surveillance biologique des professionnels exposés .....</b>	<b>27</b>
3.1 Données bibliographiques sur la corrélation entre les niveaux biologiques et les effets sur la santé pour chaque IBE identifié.....	27
3.1.1 Effets sur la reproduction et le développement .....	27
3.1.1.1 Etudes chez l'homme adulte .....	27
3.1.1.2 Etudes chez la femme adulte .....	31
3.1.1.3 Etudes chez l'enfant (en relation avec les expositions de la mère) .....	32
3.1.2 Autres effets.....	33
3.2 Données bibliographiques sur la corrélation entre l'exposition (atmosphérique et cutanée) et les niveaux biologiques observés pour chaque IBE identifié.....	33
3.3 Facteurs pouvant influencer l'interprétation des résultats.....	35
3.4 Modalités de prélèvement .....	36
3.4.1 Moment du prélèvement .....	36
3.4.2 Méthodes de prélèvement .....	36

3.4.3 Conservation, transport des prélèvements.....	36
<b>4 Biométrie.....</b>	<b>37</b>
<b>5 Construction des VLB et choix des valeurs biologiques de référence ...</b>	<b>38</b>
5.1 Valeurs limites biologiques et valeurs biologiques de référence retenues.....	38
5.2 Modalités et précautions particulières concernant les prélèvements biologiques pour chaque IBE retenu .....	40
5.3 Données pouvant affecter l'interprétation des résultats .....	41
<b>6 Conclusions de l'expertise collective.....</b>	<b>42</b>
<b>7 Références bibliographiques .....</b>	<b>43</b>
<b>Annexe 1 : Résultats des analyses d'association réalisées par Duty et al. (2003) .....</b>	<b>48</b>
<b>Annexe 2 : Méthodes d'extrapolation : calcul de l'exposition au DnBP à partir d'une concentration urinaire de MnBP .....</b>	<b>49</b>
<b>Annexe 3 : Consultation publique .....</b>	<b>50</b>
<b>Annexe 4 : Suivi des actualisations du rapport .....</b>	<b>51</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 di-n-butyl-phtalate (n° CAS 84-74-2)**

---

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 di-n-butyl-phtalate.

La France dispose actuellement d'une valeur moyenne d'exposition sur 8 heures pour le di-n-butyl-phtalate de  $5 \text{ mg.m}^{-3}$ . Elle a été fixée par une circulaire du Ministère du Travail du 13 mai 1987<sup>3</sup> (non parue au JO).

La direction générale du travail a demandé à l'Anses de réévaluer cette valeur et de proposer le cas échéant, de nouvelles valeurs d'exposition en milieu professionnel basées sur des considérations sanitaires pour le di-n-butyl phtalate.

Le CES VLEP a souhaité compléter son expertise par 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 ;

---

<sup>3</sup>

Complétant et modifiant la circulaire du 19 juillet 1982 relative aux valeurs admises pour les concentrations de certaines substances dangereuses dans l'atmosphère des lieux de travail.

- 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 spécialisé « 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 di-n-butyl-phtalate (DnBP) 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 di-n-butyl-phtalate ont été recensés à partir des mots clés suivants : « di-n-butyl phthalate », « biomarker », « biomonitoring », « urine », « blood » et « occupational » en limitant la recherche aux données chez l'homme.

### Données de toxicocinétique

L'absorption par voie cutanée ne semble pas être une voie d'absorption majoritaire chez l'Homme (flux de perméation de  $0,07 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$  d'après Scott et al., 1987 et  $0,59 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$  d'après Beydon et al., 2010). La voie d'absorption par inhalation n'a pas été décrite dans la littérature chez l'animal. Chez l'Homme, l'absorption orale de DnBP a été observée mais le taux

d'absorption n'est pas connu. Le DnBP est absorbé au niveau gastro-intestinal sous forme de mono-n-butyl-phtalate (MnBP) du fait de l'importante activité des estérases (Silva et al., 2007).

Il n'existe pas de données quantifiées chez l'humain concernant la distribution dans les différents organes.

Le MnBP peut ensuite subir une oxydation de sa chaîne latérale conduisant à la formation de 2 métabolites secondaires : le mono-3-hydroxy-n-butyl-phtalate (MHBP) et le mono-3-carboxypropyl-phtalate (MCP).

Anderson et al. (2001) ont montré que 64 % et 73 % (fraction molaire, en fonction des doses administrées : 255 et 510 µg respectivement) ou 50 et 58 % (fraction massique) du DnBP ingéré est éliminé dans les urines sous forme de MnBP (libre et conjugué) en 24 heures. Le MnBP n'était plus détectable dans les urines 24 heures après la fin de l'exposition. Une étude a montré que le MnBP conjugué (essentiellement glucuroconjugué) représentait 94% du MnBP total urinaire chez l'humain (Seckin et al., 2009).

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

Trois métabolites du DnBP sont détectables dans les urines chez l'Homme : le MCP, le MnBP et le MHBP.

En raison de l'absence de donnée concernant les concentrations urinaires de MHBP en population générale et aussi en milieu professionnel, cet IBE n'a pas été retenu.

Le MCP n'est pas retenu non plus comme IBE du fait qu'il n'est pas spécifique d'une exposition au DnBP. En effet, il est aussi un des métabolites du di-n-octyl-phtalate.

L'IBE retenu est le MnBP urinaire car il s'agit du métabolite principal du DnBP et qu'il est associé, dans certaines études chez l'Homme, à des anomalies des paramètres spermatiques ou une réduction de la distance ano-génitale chez des nouveau-nés de sexe masculin dont les mères présentaient des concentrations urinaires de MnBP plus élevées. Cet IBE n'est pas spécifique d'une exposition au DnBP car c'est aussi un des métabolites du BBzP, mais dans les cas d'exposition au BBzP, le MnBP est peu détecté même à forte exposition, voire non détecté (Anderson et al., 2001).

**Par conséquent, il est proposé de retenir uniquement le MnBP urinaire comme indicateur biologique des expositions professionnelles au DnBP.**

La littérature rapporte certains effets liés à l'exposition au DnBP, mais plus largement aux phtalates, notamment des effets sur la reproduction (modifications des niveaux hormonaux, altération de la qualité spermatique) et le développement (réduction de la distance ano-génitale à la naissance chez des garçons de mères exposées à certains phtalates). En l'absence de données complémentaires, les études sont trop peu nombreuses pour identifier clairement une cible pertinente chez l'Homme ou les marqueurs biologiques, à suivre dans le continuum exposition-effet (spermogramme, dosages hormonaux).

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

Nom	<b>Mono-n-butyl-phtalate (MnBP) urinaire</b>
Autres substances produisant cet IBE	Butylbenzyl-phtalate
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires	<p><u>Etudes de terrain :</u> Expositions atmosphériques correspondantes non-renseignées – différents secteurs d'activité [MnBPurinaire] en fin de poste : de 2 <math>\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}</math> créatinine (cr) à 1 800 <math>\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}</math> cr</p> <p><u>Etudes sur volontaires :</u> Anderson et al. (2001) - Exposition par voie orale - 255 <math>\mu\text{g}</math> de DnBP : 129 <math>\mu\text{g}</math> de MnBP.24h<sup>-1</sup> - 510 <math>\mu\text{g}</math> de DnBP : 298 <math>\mu\text{g}</math> de MnBP.24h<sup>-1</sup></p>
Facteur de conversion	<p>Poids moléculaire (PM) : 222,24 1 <math>\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}</math> = 0,0045 <math>\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}</math> 1 <math>\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}</math> = 222,24 <math>\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}</math> 1 <math>\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}</math> cr = 0,51 <math>\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}</math> cr 1 <math>\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}</math> = 1,96 <math>\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}</math> cr</p>
Concentrations dans la population générale	<p>USA-NHANES (2009-2010) - 95<sup>ème</sup> percentile (20 ans et plus, 1914 échantillons) : 68,9 <math>\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}</math> et 50,9 <math>\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}</math> cr (CDC, 2013)</p>
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	Aucune

### Etude des relations entre les concentrations des IBE du di-n-butyl-phtalate et certains effets sanitaires

#### Etudes chez l'homme adulte

Les études épidémiologiques dans lesquelles des IBE du DnBP ont été mesurés en relation avec des effets sanitaires concernent essentiellement la population générale. Il est à noter que quatre publications (équipe de Hauser 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 présentant pas des résultats indépendants entre eux.

En 2003, Duty et ses collaborateurs ont mis en évidence une relation entre les augmentations des concentrations de MnBP urinaires et la diminution de la motilité de spermatozoïdes. Dans le deuxième tertile des concentrations qui ont été étudiées (12,2 à 20,1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), la diminution de motilité des spermatozoïdes étaient deux fois plus fréquentes sachant que ce résultat n'était pas statistiquement significatif. En revanche, dans le dernier tertile (20,2 à 433,9  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), la diminution de motilité de spermatozoïdes étaient trois fois plus fréquentes avec un intervalle de confiance à 95 % qui était statistiquement significatif.

L'étude de Hauser et al. (2006) avec un effectif plus important (augmentation de la puissance statistique) confirme la relation dose-réponse entre l'augmentation des concentrations urinaires de MnBP et la diminution de la motilité des spermatozoïdes. Les diminutions de la motilité des spermatozoïdes étaient 2 fois plus fréquentes à partir de 30  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Cette étude montre, contrairement à celle de Duty et al. (2003), une relation dose-réponse entre les augmentations

des concentrations de MnBP urinaires et la diminution de la concentration en spermatozoïdes (3 fois plus fréquente dans le 3<sup>ème</sup> tertile d'exposition).

Une autre étude ne met pas en évidence de modification des paramètres spermatiques, ni des niveaux hormonaux chez des hommes autour de 20 ans dont la médiane des concentrations urinaires de MnBP était de 78 µg.L<sup>-1</sup> et 330 µg.L<sup>-1</sup> pour le 95<sup>ème</sup> percentile (Jönsson et al., 2005).

En 2004, l'équipe de Duty et al. a mis en évidence une association négative non statistiquement significative entre les concentrations urinaires de MnBP et les paramètres de motilité (vitesses linéaire et curvilinéaire) des spermatozoïdes.

Duty et al. (2005) ont montré une association positive, mais à la limite de la significativité, entre concentrations de MnBP et d'inhibine B (hormone intervenant dans les mécanismes de spermatogénèse). Selon les auteurs, ces résultats ne sont pas attendus car les études précédentes montraient une association statistique entre les modifications de certains paramètres spermatiques et les augmentations des concentrations urinaires de MnBP. Cette étude devrait donc montrer une diminution des concentrations d'inhibine B. Selon les auteurs, il est donc difficile de savoir si les résultats de cette étude reflètent des altérations biologiques ou la conséquence de comparaisons multiples.

Il n'est par ailleurs pas retrouvé de diminution de testostérone associée à une augmentation des concentrations de MnBP dans l'étude de Duty et al. (2005). Pan et al. (2006) ont montré, chez des travailleurs exposés au DnBP, une augmentation significative des concentrations de testostérone libre.

### 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. Dans l'étude de Weuve et al. (2009), avec plus de 1 200 femmes, les auteurs ont mis en évidence une relation dose-réponse entre l'augmentation des concentrations urinaires de MnBP et la prévalence des cas de pathologies utérines (en regroupant les cas d'endométriose et de léiomyome). L'étude ne montre cependant pas d'augmentation significative des pathologies utérines et cette relation dose-réponse n'a pas été mise en évidence dans l'étude des données séparées (endométriose ou léiomyome). Les résultats de cette étude sont donc difficilement interprétables en termes de lien de causalité. Dans une autre étude, sur un plus petit effectif (137 femmes), Itoh et al. (2009) n'avait pas non plus mis en évidence d'augmentation de la prévalence des cas d'endométriose.

### Etudes chez l'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). L'équipe de Swan a mis en évidence une augmentation de la fréquence de réduction de la distance ano-génitale chez le nouveau-né statistiquement associée à une augmentation des concentrations urinaires maternelles en MnBP (mais aussi en MEP, MEHP, MEHHP et MEOHP)<sup>4</sup>.

<sup>4</sup>

Mono-éthyl-phtalate MEP, mono-éthylhexyl-phtalate MEHP, mono-2-éthyl-5-hydroxyhexyl-phtalate MEHHP et mono-2-éthyl-5-oxohexyl-phtalate MEOHP



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

Référence	Population et effectif	Concentrations urinaires de MnBP Médiane (95 <sup>ème</sup> percentile)			Paramètre de la reproduction	Classe d'exposition associée à effet significatif ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )
		$\mu\text{g.L}^{-1}$		$\mu\text{g.g}^{-1}$ cr		
		Sans ajustement	Ajusté à densité <sup>5</sup> urinaire			
Duty et al., 2003	143 hommes, infertilité couple	15,9 (73,1)	16,2 (58,5)	-	Diminution de la motilité des spermatozoïdes	20,16 – 433,93 (ajusté la densité urinaire)
Duty et al., 2004	220 hommes, infertilité couple	17,8 (90)	18,0 (73,9)	-	Diminution de la motilité des spermatozoïdes	-
Duty et al., 2005	295 hommes, infertilité couple	14,3 (75,4)	16,2 (69,9)	-	Augmentation du niveau d'inhibine B (hormone)	-
Hauser et al., 2006	463 hommes, infertilité couple	-	17,7 (69,9)	-	Diminution de la concentration et motilité des spermatozoïdes	31,7 – 14 459 (ajusté sur la densité urinaire)
Jönsson et al., 2005	234 hommes suédois (service militaire)	78 (330)	-	47 (159)	Pas d'association avec spermogramme et hormones	-
Swan et al., 2005	85* mères	13,5 (75 <sup>e</sup> p 30,9)	-	-	Diminution distance anogénitale garçon Fréquence multipliée par 4	7,2 – 30,9
					Diminution distance anogénitale garçon Fréquence multipliée par 10	> 30,9
Pan et al., 2006	63 témoins non exposés	-	-	113,5 (434,5)	Corrélation significative avec baisse testostérone libre (fT) chez les exposés	-
	74 exposés (PVC)	-	-	548,4 (8781,2)		-

\* L'article n'indique pas explicitement si l'effectif est de 85 nouveau-nés garçons ou moins

### Etude des corrélations entre les concentrations urinaires de MnBP et concentrations atmosphériques

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

<sup>5</sup>  
1,024 comme valeur de référence

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

		MnBP		Références
		Médiane - valeur maximale, en µg/L et [µg/g de créatinine]		
Secteur d'activité	n	Milieu de poste	Fin de poste	
Production phtalates	9	<b>230 [121]</b> 1240 [647]	<b>1010 [363]</b> 4680 [1750]	<i>Hines et al. 2009</i>
Fabrique films PVC	25	<b>26 [13]</b> 152 [39]	<b>26 [15]</b> 116 [86]	
Filtres automobile	18	<b>18 [16]</b> 202 [101]	<b>31 [21]</b> 360 [163]	
Fabrique composants PVC	12	<b>38 [24]</b> 196 [92]	<b>63 [29]</b> 169 [92]	
Tuyaux caoutchouc	25	<b>211 [130]</b> 1580 [1370]	<b>257 [135]</b> 1790 [1810]	
Bottes caoutchouc	21	<b>39 [26]</b> 326 [592]	<b>57 [32]</b> 321 [313]	
Joints caoutchouc	20	<b>334 [269]</b> 1930 [623]	<b>643 [403]</b> 2010 [1320]	
Salons manucure	25	<b>29 [30]</b> 114 [77]	<b>38 [38]</b> 147 [119]	

		MnBP		Références
		Médiane (25 <sup>ème</sup> perc – 75 <sup>ème</sup> perc) (µg.L <sup>-1</sup> )		
Secteur d'activité	n	Début de poste	Fin de poste	
Salons manucure	37	<b>58,5</b> (32,3 – 10,7*)	<b>87,2</b> (33,8 – 160)	<i>Kwapniewski et al., 2008</i>

\* il semble que la valeur renseignée pour le 75<sup>ème</sup> percentile ne soit pas juste

### 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 (diminution de la concentration de testostérone fœtale). Par ailleurs, il a été démontré que la fenêtre d'exposition critique pour les effets anti-androgénique sur la progéniture (génération F1), identifiée dans des études chez l'animal<sup>6</sup>, était transposable à des expositions professionnelles (exposition lors du 1<sup>er</sup> tiers de la grossesse).

La VLEP a été construite à partir d'un NOAEL chez l'animal (voie orale) de 10 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 2,44 mg.kg<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> a été obtenue. En 2001, Anderson et al., rapportent des données d'excrétions urinaires du MnBP 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 MnBP (Kohn et al, 2000).

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

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

<sup>6</sup> Effets observés chez les rats à la naissance lorsque les mères avaient été exposées au cours de la gestation.

Les études épidémiologiques traitant des paramètres de fertilité d'hommes en âge de procréer sont en faveur d'une association entre les concentrations urinaires de DnBP et la qualité spermatique (Duty et al., 2003 ; Duty et al. 2004 ; Hauser et al., 2006). Elles ne permettent cependant pas de quantifier une éventuelle relation dose-réponse (classes d'exposition trop larges et trop peu d'études lorsque l'on considère que ces études ne sont pas indépendantes).

Les résultats des études de Duty et al. (2005) (population de patients d'un laboratoire d'andrologie) et de Pan et al. (2006) sur des travailleurs exposés, concernant les niveaux hormonaux sont à prendre en compte dans les mécanismes possibles de toxicité sur la fertilité masculine, mais ne permettent pas, à elles seules, de conclure de façon quantitative.

Les résultats des deux études de Swan et al. (2005 et 2008<sup>7</sup>) montrant une augmentation de la prévalence de nouveau-nés avec une distance ano-génitale réduite chez les garçons en lien avec l'augmentation des concentrations urinaires de MnBP nécessitent d'être confortés par d'autres études. De plus, cette étude, qui porte sur l'exposition environnementale maternelle à plusieurs phtalates, met en évidence des relations significatives entre la réduction de la distance ano-génitale et les concentrations de tous les métabolites de phtalates mesurés, considérés séparément ou par un score d'exposition globale. Enfin, les Odds Ratios les plus élevés sont ceux obtenus avec le MnBP, sans qu'un ajustement ne soit réalisé sur les concentrations des autres métabolites.

En conclusion, les résultats des études chez l'humain évoquent un effet reprotoxique du DnBP mise en évidence dans des études chez des hommes et des garçons. Si certains paramètres de reprotoxicité sont en lien avec les concentrations urinaires de MnBP, la plupart des résultats concernant l'altération de la qualité spermatique, sont issus d'une seule et même population d'étude et les autres paramètres permettant d'évaluer la fertilité sont encore peu investigués. L'interprétation de ces résultats et surtout le choix d'une éventuelle concentration critique de MnBP dans les urines nécessiterait des données complémentaires.

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

Il n'existe aucune étude en milieu professionnel rapportant à la fois les concentrations urinaires en MnBP et les concentrations atmosphériques en DnBP. Ceci ne permet donc pas d'établir une VLB basée sur une exposition à la VLEP-8h.

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 MnBP et des métabolites ont été décrits pour une absorption par voie orale de 2 doses différentes uniquement de DnBP 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 MnBP sur de grands effectifs en population générale<sup>8</sup>.

<sup>7</sup>

L'étude de Swan et al. (2008) n'est pas rapportée ici car aucune mesure d'IBE n'est rapportée dans la publication (résultats non exploitables dans ce cadre).

<sup>8</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 les résultats ne sont pas encore publiés.

Par ailleurs, les données d'autres pays européens comme la Suède (Jönsson et al., 2005) ou l'Allemagne (Wittassek et al., 2007 et Göen et al., 2011) concernent des populations particulières, étudiants uniquement ou hommes uniquement et ne peuvent servir de base à la recommandation de valeurs biologiques de référence.

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 MnBP varient significativement en fonction du sexe et de l'âge. Or, les rapports de cette étude présentent les résultats soit en fonction de l'âge, soit en fonction du sexe, il n'a donc pas été possible de distinguer, dans la classe d'âge d'intérêt (plus de 20 ans), les concentrations urinaires des hommes et des femmes séparément.

La concentration urinaire de 70  $\mu\text{g.L}^{-1}$  ou 50  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de créatinine pour le MnBP correspondant au 95<sup>ème</sup> percentile de la distribution des concentrations urinaires des hommes et des femmes, issu de la campagne 2009-2010 est proposée comme valeur biologique de référence, mais il est à noter que les concentrations urinaires chez les femmes peuvent être plus élevées que chez les hommes.

## Conclusions de l'expertise collective

Les valeurs biologiques proposées pour le suivi de l'exposition au di-n-butyl-phtalate sont :

### Mono-n-butyl-phtalate urinaire

VLB basée sur un effet sanitaire	Aucune
VLB basée sur une exposition à la VLEP-8h	Aucune
Valeur biologique de référence	70 $\mu\text{g.L}^{-1}$ ou 50 $\mu\text{g.g}^{-1}$ 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 prélèvements urinaires doivent être réalisés sur des tubes préalablement testés et, ne présentant pas de niveaux détectables de phtalate. 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.

Outre les différences de concentrations attendues entre les hommes et les femmes, certains traitements médicamenteux peuvent être responsables d'une augmentation des concentrations urinaires de MnBP du fait de la présence de DnBP dans leur formulation (excipient).

**Biométrie**

<b>MnBP urinaire</b>		
Contrôle qualité interlaboratoire	Non renseigné	
	Méthode 1	Méthode 2
Technique d'analyse	Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (ionisation chimique) LC-APCI-MS/MS	Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (ionisation électrospray) LC-ESI-MS/MS
Limite de détection	0,94 µg. L <sup>-1</sup>	0,50 µg. L <sup>-1</sup> (signal/bruit = 3)
Limite de quantification	Non renseigné	5 µg. L <sup>-1</sup> (signal/bruit = 10)
Fidélité	Non renseigné	
Justesse	Non renseigné	
Etalon de référence	Solution standard de <sup>13</sup> C <sub>4</sub> MBP	Solution standard : de d <sub>4</sub> -MBP
Traitement avant analyse	Traitement 1h30 à 37°C à la β-glucuronidase <sup>9</sup> . Extraction en phase solide (SPE) des métabolites.	Traitement 1h à 37°C à la β-glucuronidase. Extraction SPE des métabolites.
Références	Silva et al., 2003	Pan et al., 2006

9

*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'Afsset dans le cadre du plan santé au travail 2005-2009 (PST), puis à l'Anses suite à la fusion de l'Afsset et de l'Afssa en 2010.

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** (VLB) 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). 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). 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** (VBR) 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  
AGS : Ausschuss für Gefahrstoffe (comité pour les substances dangereuses)  
CES : comité d'experts spécialisé  
COCT : Conseil d'Orientation sur les Conditions de Travail  
Cr : créatinine  
DFG : Deutsche Forschung Gemeinschaft (Allemagne)  
ECB : European chemical bureau  
IBE : indicateur biologique d'exposition  
GT : groupe de travail  
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)  
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)  
MAK : maximale arbeitsplatz-konzentration (concentration maximale des lieux de travail)  
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  
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

Les seules données d'absorption cutanée ont été observées chez le rat. Scott et al. (1987) ont conclu, à partir de résultats *in vitro*, que l'absorption cutanée chez l'Homme serait plutôt lente ; le taux d'absorption est plus élevé pour la peau de rat ( $9,33 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ ) que pour la peau humaine ( $0,07 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ ). De même, Beydon et al., ont montré que le taux d'absorption est plus élevé pour la peau de rat ( $24 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ ) que pour la peau humaine ( $0,59 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ ).

### 1.1.2 Pulmonaire

Il n'existe pratiquement pas de données quantitatives sur l'absorption des phtalates par inhalation (seule une étude identifiée chez le rat indique qu'environ 1,5% d'une concentration de 100 mg de DEHP/m<sup>3</sup>, sous forme d'aérosol, est absorbé en 6 h (Inserm, 2011 ; ECB, 2008). Aucune étude n'a été retrouvée sur le DnBP.

### 1.1.3 Digestive

Chez l'Homme, l'absorption orale de DnBP a été observée mais le taux d'absorption n'est pas connu. Les prélèvements sanguins réalisés chez 13 personnes, 2 heures après la consommation d'aliments emballés dans du plastique contenant du DnBP, révèlent une concentration plasmatique moyenne de  $0,10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (IPCS, 1997). Chez 9 des 13 volontaires, avant consommation des aliments mentionnés, la concentration plasmatique moyenne de DnBP était égale à  $0,02 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Silva et al. (2007) indiquent que le DnBP est absorbé au niveau gastro-intestinal sous forme de mono-n-butyl-phtalate (MnBP) du fait de l'importante activité des estérases.

## 1.2 Distribution

Il n'existe pas de données quantifiées chez l'humain concernant la distribution dans les différents organes.

Après administration orale unique de DnBP radiomarké chez des rats mâles Wistar, aucune accumulation significative n'a été observée (Williams, 1975). Ces résultats sont confirmés par les travaux de Tanaka et al. (1978) chez le rat, qui observent, 24 h après administration de  $60 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  de DnBP la distribution suivante : 0,06% de la dose administrée dans le foie, 0,02% dans les reins, 0,3% dans les muscles, 0,7% dans les tissus adipeux, 1,53% dans les intestins, 0,01% dans l'estomac et 0,02% dans le sang. Après exposition cutanée, la distribution du DnBP est différente puisque, après 7 jours, 0,41% d'une dose de 44 mg/kg à laquelle des rats F344 ont été exposés sont retrouvés au niveau du tissu adipeux, 1,4% au niveau de la peau et 1,1% au niveau musculaire. Trente pour cent de la dose appliquée demeurent au niveau du site d'application (Elsisi et al., 1989).



Après inhalation de DnBP chez le rat aux doses de  $0,5 \text{ mg.m}^{-3}$  et  $50 \text{ mg.m}^{-3}$ , 6 heures par jour durant 3 ou 6 mois, les organes cibles identifiés sont le cerveau, les poumons, le foie, les reins et les testicules (IPCS, 1997).

Le DnBP et ses métabolites peuvent traverser la barrière placentaire chez le rat Sprague-Dawley (Saillenfait, 1998). Après administration orale de DnBP radiomarqué aux doses de 500 et  $1500 \text{ mg.kg}^{-1}$  à des femelles gestantes (au 14<sup>ème</sup> jour de gestation), les niveaux de radioactivité placentaires et embryonnaires mesurés correspondent au tiers ou moins du taux plasmatique retrouvé chez les mères. Moins de 0,12 à 0,15% de la dose administrée est retrouvée dans les tissus embryonnaires.

### 1.3 Métabolisation

Chez l'animal, il a été identifié que le DnBP ingéré était hydrolysé en un mono-ester. Le DnBP est hydrolysé en MnBP par une lipase pancréatique et une estérase de la muqueuse intestinale avant d'être absorbé. Cette hydrolyse peut également survenir après l'absorption, au niveau hépatique et rénal (INRS, 2003).

Le MnBP peut ensuite subir une oxydation de sa chaîne latérale. Une étude récente a montré la similarité des métabolites du DnBP chez le rat et chez l'humain (Silva et al., 2007). Le MnBP est le métabolite urinaire et sérique majoritaire dans les 2 espèces et serait responsable de la toxicité du DnBP (effets sur le développement, effet anti-androgénique (Inserm, 2011)). Deux autres métabolites sont également rapportés : le mono-3-hydroxy-n-butyl-phthalate (MHBP) et le mono-3-carboxypropyl-phthalate (MCPP).

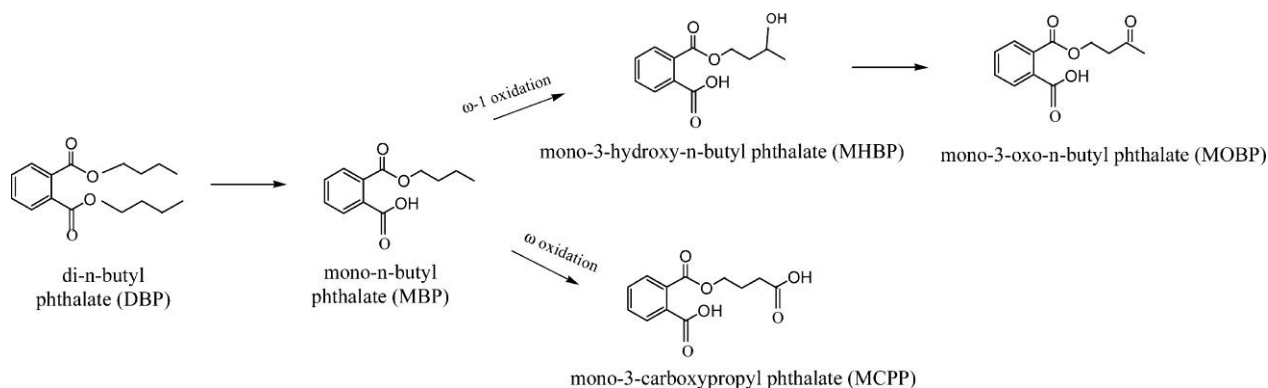


Figure 1 : schéma métabolique proposé par Silva et al. (2007)

### 1.4 Excrétion

Anderson et al. (2001) rapportent des données d'excrétion du MnBP suite à l'ingestion de DnBP par 8 volontaires. Les auteurs montrent que 64 % et 73 % (fraction molaire, en fonction des doses administrées : 255 et 510  $\mu\text{g}$  respectivement) ou 50 et 58 % (fraction massique) du DnBP ingéré sont éliminés dans les urines sous forme de MnBP (libre et conjugué) en 24 heures. Le MnBP n'est plus détectable dans les urines 24 heures après la fin de l'exposition.

Une étude a montré que le MnBP conjugué (essentiellement glucuroconjugué) représentait 94% du MnBP total urinaire chez l'Homme (Seckin et al., 2009). Dans une étude réalisée avec 94 échantillons d'urines prélevés en population générale, Silva et al. (2007) rapportent que le ratio entre les concentrations urinaires de MCPP et de MnBP est égal à 26 %. Dans la même publication, Silva et al. (2007) ont mesuré les concentrations de MnBP, MCPP et MHBP dans les urines de 4 volontaires prenant un traitement médicamenteux comportant du DnBP dans sa formulation. Le ratio entre les concentrations urinaires de MCPP et de MnBP était égal à 0,9 % ( $\pm 0,1$  %) et le ratio entre les concentrations de MHBP et de MnBP était égal à 9,2 % ( $\pm 2,2$  %). Les auteurs concluent que cette différence pourrait être liée à une autre source de MCPP (tel

que par exemple le di-n-octyl-phtalate) dans la population générale ou des différences métaboliques liées aux niveaux d'exposition.

## 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-n-butyl-phtalate (MnBP)	urine
Mono-3-hydroxy-n-butyl-phtalate (MHBP)	urine
Mono-3-carboxypropyl-phtalate (MCPP)	urine

#### 2.1.1 Informations générales

Nom	Mono-n-butyl-phtalate (MnBP) urinaire
Autres substances produisant cet IBE	Butylbenzyl-phtalate
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires	<p><u>Etudes de terrain :</u> Exposition Non renseignée (NR) – différents secteurs d'activité [MnBPurinaire] en fin de poste : de 2 <math>\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}</math> cr à 1 800 <math>\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}</math> cr</p> <p><u>Etudes sur volontaires :</u> Anderson et al. (2001) - Exposition par voie orale</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 255 <math>\mu\text{g}</math> de DnBP : 129 <math>\mu\text{g}</math> de MnBP.24h<sup>-1</sup></li> <li>- 510 <math>\mu\text{g}</math> de DnBP : 298 <math>\mu\text{g}</math> de MnBP.24h<sup>-1</sup></li> </ul>
Facteur de conversion	PM : 222,24 $1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1} = 0,0045 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1} = 222,24 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ $1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \text{ cr} = 0,51 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1} \text{ cr}$ $1 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1} = 1,96 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \text{ cr}$
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 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ cr (CDC, 2013)
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	Aucune

Nom	Mono-3-hydroxy-n-butyl-phtalate (MHBP)
Autres substances donnant naissance à cet indicateur biologique d'exposition	NR
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires (avec les expositions et moments de prélèvement)	<p><u>Etudes de terrain :</u> NR</p> <p><u>Etudes sur volontaires :</u> NR</p>
Facteur de conversion (avec poids moléculaire)	PM : 238,24 $1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1} = 0,0042 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1} = 238,24 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

Concentrations dans la population générale	NR
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	Aucune

Nom	<b>Mono-3-carboxypropyl-phthalate (MCPP)</b>
Autres substances donnant naissance à cet indicateur biologique d'exposition	Di-n-octyl-phthalate
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires (avec les expositions et moments de prélèvement)	<u>Etudes de terrain :</u> Exposition NR – différents secteurs d'activité [MCPPurinaire] en fin de poste : de 0,8 µg.g <sup>-1</sup> cr à 70 µg.g <sup>-1</sup> cr  <u>Etudes sur volontaires :</u> NR
Facteur de conversion (avec poids moléculaire)	PM : 252,24 1 µg.L <sup>-1</sup> = 0,0039 µmol.L <sup>-1</sup> 1 µmol.L <sup>-1</sup> = 252,24 µg.L <sup>-1</sup>
Concentrations dans la population générale	USA-NHANES (2009-2010) - 95 <sup>ème</sup> percentile (20 ans et plus, 1814 échantillons) : 21,8 µg.L <sup>-1</sup> et 18,1 µg.g <sup>-1</sup> créat (CDC, 2011)
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	Aucune

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

Analyte	Matrice	Avantages	Inconvénients
MnBP	Urine	Métabolite majoritaire Profil d'élimination compatible avec un prélèvement en fin de poste Prélèvements non invasifs	Peu de données de cinétique Non spécifique (métabolite du BBzP)
MHBP	Urine	Prélèvements non invasifs	Pas de données (population générale et professionnelle)
MCPP	Urine	Prélèvements non invasifs	Faible quantité Non spécifique (métabolite du di-n-octyl-phthalate)

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

Trois métabolites du DnBP sont détectables dans les urines chez l'Homme : le MCPP, le MnBP et le MHBP.

En raison de l'absence de données concernant les concentrations urinaires de MHBP en population générale et aussi en milieu professionnel, cet IBE n'a pas été retenu.

Le MCPP n'est pas retenu non plus comme IBE du fait qu'il n'est pas spécifique d'une exposition au DnBP. En effet, il est aussi un des métabolites du di-n-octyl phthalate.

L'IBE retenu est le MnBP urinaire car il s'agit du métabolite principal du DnBP et que l'augmentation de sa concentration est associée, dans certaines études chez l'Homme, à des anomalies des paramètres spermatiques ou à une réduction de la distance ano-génitale chez

des nouveau-nés de sexe masculin. Cet IBE n'est pas spécifique d'une exposition au DnBP car c'est aussi un des métabolites du BBzP, mais dans les cas d'exposition au BBzP, le MnBP est peu détecté même à forte exposition (336-510 mg de phtalate), voire non détecté (Anderson et al., 2001).

**Par conséquent, il est proposé de retenir uniquement le MnBP urinaire comme indicateur biologique des expositions professionnelles au DnBP.**

## 2.2 Indicateurs biologiques d'effets disponibles

La littérature rapporte certains effets liés à l'exposition au DnBP, mais plus largement aux phtalates, notamment des effets sur la reproduction (modifications des niveaux hormonaux, altération de la qualité spermatique) et le développement (réduction de la distance ano-génitale à la naissance chez des garçons de mères exposées aux phtalates). En l'absence de données complémentaires, les études sont trop peu nombreuses pour identifier clairement une cible pertinente, ou les marqueurs biologiques, à suivre dans le continuum exposition-effet (spermogramme, dosages hormonaux).

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

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

Les experts du CES VLEP n'ont pas retenu d'étude épidémiologique pour la construction de la VLEP par manque d'indications concernant les expositions dans ces études et ont souhaité retenir des études chez l'animal, en conditions contrôlées d'exposition.

##### 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 (monoesters) du DEHP, du DnBP, du BBzP et la qualité des spermatozoïdes. Dans cette étude, 168 hommes ont été recrutés (entre janvier 2000 et avril 2001) dans le Massachusetts lors d'une consultation pour analyse spermatique en raison d'une infertilité de couple. L'étude utilise les critères suivants 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 est prélevé pour l'analyse des métabolites<sup>10</sup>. Les auteurs ont réalisé une première analyse des résultats 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. Les auteurs ont rapporté les résultats suivants (tableau de synthèse en Annexe 1) :

- la diminution de motilité des spermatozoïdes est plus fréquente chez les hommes présentant une concentration urinaire de MnBP supérieure à la médiane (OR ajusté = 2,4 ; IC95% : 1,1-5,0) que chez les hommes présentant une concentration urinaire de MnBP inférieure (ajustée sur la densité) ;
- la diminution de la concentration en spermatozoïdes est plus fréquente chez les hommes présentant une concentration urinaire de MnBP supérieure à la médiane que chez les hommes présentant une concentration urinaire de MnBP inférieure, mais ce résultat n'est pas confirmé lorsque les concentrations urinaires sont ajustées sur la densité (1,024 comme valeur de référence) ou en excluant certains résultats (urines diluées ou concentrées) ;
- les altérations morphologiques des spermatozoïdes ne sont pas plus fréquentes chez les hommes présentant des concentrations urinaires de MnBP supérieures aux médianes que chez les hommes présentant des concentrations urinaires inférieures ;
- les modifications des paramètres spermatiques ne sont significativement pas plus fréquentes chez les hommes présentant des concentrations des IBE des autres phtalates supérieures aux médianes que chez les hommes présentant des concentrations inférieures.

<sup>10</sup> Mono-éthyl-phtalate MEP, mono-méthyl-phtalate MMP, mono-éthylhexyl-phtalate MEHP, MnBP, mono-benzyl-phtalate MBzP, mono-n-octyl-phtalate MOP, mono-3-méthyl-5-diméthylhexyl-phtalate MINP et monocyclohexyl-phtalate MCHP.

Enfin l'analyse a été affinée (répartition en tertiles) pour évaluer l'existence d'une fonction dose-réponse entre les concentrations urinaires 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 MnBP et la diminution des concentrations en spermatozoïdes, mais qui n'apparaît pas statistiquement significative ( $p = 0,07$ ). La relation entre l'augmentation des concentrations urinaires de MnBP et la diminution de la motilité des spermatozoïdes est par contre significative (les résultats de l'analyse statistique sont rapportés dans le Tableau 2 et les concentrations de MnBP dans le Tableau 3).

**Tableau 2 : odds-ratios (intervalle de confiance à 95%), ajustés (âge, durée d'abstinence sexuelle et tabagisme) ou non, pour la diminution de la concentration ou de la motilité des spermatozoïdes en fonction des concentrations urinaires de MnBP (d'après Duty et al., 2003)**

Concentrations urinaires ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) ajustée sur la densité		n	Diminution concentration spermatozoïdes < 20 millions/mL		Diminution motilité < 50 % de spermatozoïdes mobiles	
			OR calculés en excluant les hommes présentant des urines trop diluées ou trop concentrées			
			Non-ajustés	Ajustés	Non-ajustés	Ajustés
MnBP	0 – 11,64	6	1,0	1,0	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>
	12,24 – 20,13	6	1,3 (0,4 – 4,6)	1,4 (0,3 – 6,0)	<b>1,8</b> <b>(0,8 – 4,3)</b>	<b>1,8</b> <b>(0,7 – 4,6)</b>
	<b>20,16 – 433,93</b>	10	2,7 (0,8 – 8,6)	3,3 (0,9 – 12,6)	<b>2,9</b> <b>(1,2 – 6,9)</b>	<b>3,0</b> <b>(1,2 – 7,6)</b>
<b>Significativité (p)</b>			0,10	0,07	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>

**Tableau 3 : Concentrations urinaires de MnBP (en  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) (d'après Duty et al., 2003)**

Concentrations ajustées à la densité urinaire						
N	min-max	Percentiles				
		5 <sup>ème</sup>	25 <sup>ème</sup>	50 <sup>ème</sup>	75 <sup>ème</sup>	95 <sup>ème</sup>
143	<LD – 434	3,7	10,2	16,2	23,9	58,5
Concentrations non ajustées à la densité urinaire						
168	<LD – 488	2,3	9,6	15,9	32,5	73,1

Par la suite, **Duty et al. (2004)** ont cherché les relations entre l'excrétion urinaire de métabolites (monoesters) du DEHP, du DnBP, du BBzP et la concentration en spermatozoïdes, la motilité et la morphologie des spermatozoïdes (critères 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 (entre janvier 2000 et octobre 2001) dans le Massachusetts lors d'une consultation pour analyse spermatique en raison d'une infertilité (même lieu que pour Duty et al. (2003) donc très probablement sujets identiques vu le large chevauchement des périodes de recrutement). Un échantillon d'urine a été prélevé pour l'analyse des mêmes métabolites de phtalates que ceux cités dans l'étude de Duty et al. (2003). Bien que les résultats ne soient pas statistiquement significatifs, l'analyse par régression multiple va dans le sens d'une association négative entre les concentrations urinaires de MnBP et les paramètres de motilité (les concentrations de MnBP sont rapportées dans le Tableau 4).

**Tableau 4 : Concentrations urinaires de MnBP (en  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) (d'après Duty et al., 2004)**

Concentrations non ajustées à la densité urinaire						
N	min-max	Percentiles				
		5 <sup>ème</sup>	25 <sup>ème</sup>	50 <sup>ème</sup>	75 <sup>ème</sup>	95 <sup>ème</sup>
220	<LD – 3169,9	2,5	10,1	17,8	34,4	90,0
Concentrations ajustées à la densité urinaire (1,024 comme valeur de référence)						
220	<LD – 2623,4	4,0	11,3	18,0	31,6	73,9

**Hauser et al. (2006)** ont complété l'étude de Duty et al. (2003) en intégrant plus de volontaires afin d'augmenter la puissance statistique. Dans cette étude, 463 hommes (dont 168 issus de l'étude de Duty et al, 2003) ont été recrutés (entre janvier 2000 et mai 2004) dans le Massachusetts lors d'une consultation pour analyse spermatique en raison d'une infertilité. L'étude utilise les mêmes critères que Duty et al. (2003) pour évaluer la qualité des éjaculats. Un seul échantillon d'urine est prélevé pour l'analyse des métabolites<sup>11</sup>. Les résultats montrent une relation dose-réponse entre l'excrétion urinaire du MnBP et la diminution de la concentration de spermatozoïdes ou de leur motilité. Les résultats pour les autres phtalates ne sont pas significatifs (les résultats de l'analyse statistique sont rapportés dans le Tableau 5 et les concentrations de MnBP dans le Tableau 6).

**Tableau 5 : odds-ratios (intervalle de confiance à 95%) pour les différents paramètres spermatiques en fonction des concentrations urinaires (ajustées sur la densité urinaire, 1,024 comme valeur de référence) de MnBP (en  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) (d'après Hauser et al., 2006)**

Concentrations urinaires de MnBP	Diminution concentration en spermatozoïdes		Diminution motilité des spermatozoïdes		Altération morphologie des spermatozoïdes	
	OR ajustés calculés pour l'ensemble des hommes					
	n		n		n	
0,3 – 10,6	7	<b>1,0</b>	40	<b>1,0</b>	30	1,0
10,7 - 17,7	19	<b>3,1 (1,2 – 8,1)</b>	49	<b>1,5 (0,8 – 2,6)</b>	23	0,8 (0,4 – 1,6)
17,8 – 31,7	15	<b>2,5 (0,9 – 6,7)</b>	54	<b>1,5 (0,8 – 2,6)</b>	25	0,9 (0,5 – 1,7)
<b>31,7 – 14 459</b>	19	<b>3,3 (1,2 – 8,5)</b>	60	<b>1,8 (1,1 – 3,2)</b>	20	0,8 (0,4 – 1,6)
Significativité (p)		<b>0,04</b>		<b>0,04</b>		0,59

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

Concentration urinaire de MnBP ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )						
Concentrations ajustées à la densité urinaire (1,024 comme valeur de référence)						
N	min-max	Percentiles				
		5 <sup>ème</sup>	25 <sup>ème</sup>	50 <sup>ème</sup>	75 <sup>ème</sup>	95 <sup>ème</sup>
463	<LD – 14 459	3,2	10,6	17,7	31,7	69,9

**Jönsson et al. (2005)**, sur une population de 234 jeunes conscrits suédois (18 – 21 ans), n'observent pas d'association entre les concentrations urinaires de MnBP et les paramètres spermatiques ou les concentrations d'hormones sexuelles. Les valeurs médianes de MnBP sont pourtant plus élevées que dans la population étudiée par Duty et al. 2003 (les concentrations de MnBP sont rapportées dans le Tableau 7).

<sup>11</sup>

MnBP, Mono-éthyl-phtalate MEP, mono-méthyl-phtalate MMP, mono-éthylhexyl-phtalate MEHP, MnBP, mono-benzyl-phtalate MBzP et 2 métabolites oxydés du di-éthylhexyl-phtalate.



**Tableau 7 : Concentrations urinaires de MnBP (en  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) (d'après Jönsson et al., 2005)**

N	min-max	Percentiles				
		5 <sup>ème</sup>	25 <sup>ème</sup>	50 <sup>ème</sup>	75 <sup>ème</sup>	95 <sup>ème</sup>
234	<LD – 830	<LD	40	78	140	330

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 métabolites<sup>12</sup> et d'éventuelles modifications des paramètres spermatiques. Dans cette étude, les paramètres spermatiques (concentration, motilité et morphologie des spermatozoïdes) ont été étudiés selon les mêmes critères que dans les études de l'équipe de Hauser. Après une analyse statistique des paramètres spermatiques au regard des concentrations urinaires de MnBP, les auteurs rapportent que les résultats pouvant indiquer une altération de la qualité spermatique n'étaient pas associés aux concentrations de l'ensemble des métabolites mesurés pour le DnBP (les résultats de l'analyse statistique sont rapportés dans le Tableau 8).

**Tableau 8 : 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 MnBP (d'après Wirth et al., 2008)**

	Diminution concentration en spermatozoïdes	Diminution motilité des spermatozoïdes	Altération morphologie des spermatozoïdes
Non ajusté	2,5 (0,7 – 9,2)	1,1 (0,3 – 3,6)	1,6 (0,5 – 5,6)
Ajusté	0,5 (0,1 – 3,6)	0,8 (0,2 – 3,9)	3,3 (0,7 – 16,2)

**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, LH, testostérone, inhibine B (marqueur précoce d'altération de la spermatogénèse selon les auteurs) et SHBG (sex hormone-binding globulin) et les concentrations urinaires de métabolites (monoesters) de différents phtalates<sup>13</sup>. Les prises de sang ont eu lieu entre 9 et 16 h, dont 90% entre 10 et 14 h pour minimiser la variabilité diurne des hormones. Les moments de recueil des urines ne sont pas précisés. La médiane des concentrations urinaires de MnBP, non ajustées à la densité urinaire, était égale à **14,3  $\mu\text{g.L}^{-1}$**  (5<sup>ème</sup> percentile : 2,2 et 95<sup>ème</sup> percentile : 75,4). Une analyse par régression multiple montre une association positive, mais à la limite de la significativité, entre concentrations de MnBP et d'inhibine B. Ainsi, l'augmentation d'un interquartile des concentrations urinaires de MnBP est associée à une augmentation de 4,8% (IC95% : 0-10) de la concentration médiane d'inhibine B (153,5  $\text{ng.L}^{-1}$ , de 7,8 à 450,3  $\text{ng.L}^{-1}$  comme valeurs minimales et maximales). Mais selon les auteurs, il est difficile de savoir si ces résultats sont en rapport avec de réelles modifications hormonales ou la conséquence de comparaisons multiples. Enfin, il n'est pas retrouvé de diminution de la testostérone associée à une augmentation des concentrations de MnBP contrairement à l'étude de Pan et al. (2006) conduite chez des travailleurs, donc plus exposés que dans cette étude.

**Pan et al. (2006)** ont suivi en Chine 74 ouvriers (hommes) d'une usine de production de PVC exposés au DnBP et/ou DEHP (inhalation et contact cutané). Un groupe contrôle composé de 63 employés (hommes) d'une industrie de construction a été également suivi. La moyenne d'âge était de 34 ans ( $\pm$  10 ans). Les concentrations atmosphériques n'étaient pas renseignées

<sup>12</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>13</sup> Mono-éthyl-phthalate MEP, mono-éthylhexyl-phthalate MEHP, MnBP, mono-benzyl-phthalate MBzP et mono-méthyl-phthalate MMP.

dans la publication. Les prélèvements urinaires et sanguins ont été réalisés en milieu de semaine et début de poste (entre 8h00 et 11h00). Les hormones FSH, LH, testostérone libre (fT) et œstradiol ont été dosées dans le sérum. La moyenne géométrique des concentrations urinaires de MnBP chez les ouvriers exposés était égale à  $644,3 \mu\text{g.g}^{-1}$  de créatinine et la médiane à  **$548,4 \mu\text{g.g}^{-1}$  de créatinine** (10<sup>ème</sup> percentile : 156,7 et 95<sup>ème</sup> percentile : 8 781,2) ; ces valeurs étaient nettement plus élevées que celles du groupe contrôle (moyenne géométrique et médiane égales à 129,6 et 113,5  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de créatinine, respectivement). A noter que 3 travailleurs exposés avaient des concentrations urinaires de MnBP supérieures à 21 000  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de créatinine. Sur l'ensemble du groupe exposé (DnBP + DEHP), seules les concentrations sériques de fT étaient significativement diminuées comparativement aux témoins ( $p = 0,019$ ). Après une première analyse (coefficient de corrélation partielle), les auteurs ont montré une corrélation significative entre la diminution des concentrations sériques de fT et l'augmentation des concentrations urinaires de MnBP ( $r = -0,253$ ,  $p = 0,032$ ) ; cette corrélation, n'était pas retrouvée chez le groupe contrôle. Une corrélation positive a été mise en évidence entre les concentrations de MnBP et les rapports LH/fT ( $r = 0,216$ ,  $p = 0,034$ ). Les auteurs ont également rapporté, après analyse par régression multiple, que seules les concentrations de MnBP étaient significativement (inversement) corrélées aux concentrations de fT. Un biais dans le mode de prélèvement (1 seul prélèvement sanguin et urinaire) est évoqué par les auteurs, en raison des fortes fluctuations des taux hormonaux et des demi-vies des phtalates relativement courtes. Les auteurs ont écarté la possibilité d'un effet des PVC sur les niveaux de concentration de testostérone.

Il est à noter que certaines autres études figurant 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 DnBP ou qu'elles ne concernaient pas la population d'intérêt.

### 3.1.1.2 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.

**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. Au total 137 femmes en âge de procréer ont été retenues pour cette étude parmi les 166 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>14</sup>. Les auteurs ont considérés 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 MBnP était plus élevée chez les cas que chez les témoins (la significativité statistique n'a pas été rapportée). Les auteurs rapportent qu'une analyse par régression logistique ne montre pas d'association entre concentrations urinaires de MBnP et endométriose. Par ailleurs, aucune relation dose-réponse n'a été mise en évidence entre les concentrations de MBnP urinaire et la sévérité de l'endométriose (Tableau 9).

<sup>14</sup>

Mono-éthyl-phtalate MEP, mono-éthylhexyl-phtalate MEHP, mono-n-butyl-phtalate MnBP, mono-benzyl-phtalate MBzP, mono(2-éthyl-5-hydroxyhexyl-phtalate MEHHP, et mono-2-éthyl-5-oxohexyl-phtalate MEOHP.

**Tableau 9 : concentrations urinaires de MnBP (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 en fonction des concentrations urinaires de MnBP (d'après Itoh et al., 2009)**

	Témoins (Stade 0 et l'endométriose) (n= 80)	Cas (Stade II à IV endométriose) (n=50)	OR non ajusté	OR ajusté <sup>15</sup>
Concentrations urinaires de MnBP Médiane (25 <sup>ème</sup> - 75 <sup>ème</sup> percentile)				
$\mu\text{g.L}^{-1}$	84,3 (40,4 – 127,9)	87,2 (62,5 – 127,1)	1,04 (0,53 – 2,04)	1,19 (0,56 – 2,51)
$\mu\text{g.g}^{-1}$ de créat	43,3 (28,6 – 67,1)	47,6 (35,0 – 63,1)	1,11 (0,56 – 2,19)	1,14 (0,54 – 2,39)

**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 utérins 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 rapportent une faible association positive entre les concentrations urinaires en MnBP et l'endométriose ou le léiomyome utérin (Tableau 10).

**Tableau 10 : Concentrations urinaires de MnBP (en  $\text{ng.mg}^{-1}$  de créat) odds-ratios (intervalle de confiance à 95%) pour endométriose, léiomyome utérin et endométriose ou léiomyome utérin en fonction des concentrations urinaires de MnBP (d'après Weuve et al., 2010)**

Concentrations urinaires ( $\text{ng.mg}^{-1}$ de créat) de MnBP	OR endométriose		OR léiomyome utérin		OR endométriose ou léiomyome utérin	
	Cas/n		Cas/n		Cas/n	
0,4 – 15,6	22/303	1 (référence)	33/301	1 (référence)	42/301	1 (référence)
15,7 – 25,3	20/306	0,75 (0,38 – 1,47)	29/305	0,66 (0,40 – 1,10)	41/305	0,74 (0,46 – 1,20)
25,4 – 41,3	22/310	0,96 (0,49 – 1,91)	39/308	0,76 (0,46 – 1,28)	53/308	0,97 (0,62 – 1,53)
41,4 – 6429	23/308	1,24 (0,65 – 2,34)	50/307	1,26 (0,70 – 2,27)	65/307	1,55 (0,87 – 2,75)
Significativité (p)	0,3		0,2		<b>0,03</b>	

### 3.1.1.3 Etudes chez l'enfant (en relation avec les expositions de la mère)

La VLEP a été construite sur la base de la réduction des concentrations de testostérone chez le fœtus par exposition de la mère à partir d'une étude chez l'animal. 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 (diminution de la concentration de testostérone fœtale). Par ailleurs, Il a été démontré que la fenêtre d'exposition critique pour les effets anti-androgénique sur la progéniture (génération F1), identifiée dans des études chez l'animal<sup>16</sup>, était transposable à des expositions professionnelles (exposition lors du 1<sup>er</sup> tiers de la grossesse).

Les résultats d'une étude de cohorte ayant pour objectif d'évaluer la toxicité de certains phtalates sur le développement fœtal ont été publiés par **Swan et al. (2005) et Swan (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.

<sup>15</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

<sup>16</sup>

Effets observés chez les rats à la naissance lorsque les mères avaient été exposées au cours de la gestation.

Swan et al. ont montré principalement une réduction de la distance ano-génitale significativement associée à une augmentation des concentrations urinaires maternelles de MnBP, mais aussi de MEP, MEHP, MEHHP et MEOHP. Les auteurs ont montré qu'une réduction significative de la distance ano-génitale était 4 fois plus fréquente chez les garçons des mères présentant des concentrations urinaires de MnBP supérieures à  $7 \mu\text{g.L}^{-1}$  (et inférieures à  $31 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) et 10 fois plus fréquente chez les garçons des mères présentant des concentrations urinaires de MnBP supérieure à  $31 \mu\text{g.L}^{-1}$ . La relation dose réponse est présentée (dans le cas du MnBP) dans le Tableau 11 :

**Tableau 11 : Odds-ratios (intervalle de confiance à 95%) pour la diminution de la distance ano-génitale de garçons en fonction des concentrations urinaires maternelles de MnBP (d'après Swan et al., 2005)**

Concentrations MnBP ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	n	OR – diminution de la distance ano-génitale	Référence
< 7,2	85	1,0	Swan et al. (2005)
$\geq 7,2$ et < 30,9		3,8 (1,2 – 12,3)	
$\geq 30,9$		10,2 (2,5 – 42,2)	

### 3.1.2 Autres effets

Dans une étude réalisée à partir des résultats de l'enquête nationale américaine NHANES, **Stahlhut et al. (2007)** avaient mis en évidence des relations entre les concentrations urinaires de certains métabolites de phtalates et la résistance à l'insuline (trouble métabolique impliqué dans le diabète). Après analyse en ajustant les résultats sur certains facteurs de confusion, les auteurs ont finalement conclu que les concentrations urinaires de MnBP n'étaient pas un facteur prédictif d'un trouble métabolique du type de la résistance à l'insuline.

## 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 au DnBP et les niveaux biologiques de MnBP dans les urines.

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

**Hines et al. (2009)** ont dosé le MnBP et un métabolite secondaire (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. Comme aucune mesure n'a été réalisée sur des travailleurs non exposés, les niveaux mesurés chez les exposés ont été comparés à ceux rencontrés dans la population générale américaine (NHANES 2001-2002). Les auteurs rapportent que les moyennes géométriques des concentrations de MnBP en fin de poste varient d'un facteur 30 entre les secteurs investigués. Les auteurs indiquent les secteurs utilisant encore du DnBP (à savoir, production de phtalates, fabrique de joints ou tuyaux en caoutchouc et salons de manucure) et ceux n'en utilisant plus (fabrique de bottes en caoutchouc, fabriques de films et composants en PVC et de filtres plastisol). Les concentrations urinaires de MnBP sont présentées dans le Tableau 12 :

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

Secteurs étudiés par Hines et al (2009)	n	MnBP Moyenne géométrique (écart-type géométrique) <b>Médiane</b> (min – max)	
		$\mu\text{g.L}^{-1}$	$\mu\text{g.g}^{-1}$ créat
<b>Milieu de poste</b>			
Production phtalates	9	306 (2,59) <b>230</b> (78,8 – 1 240)	187 (2,44) <b>121</b> (65,5 – 647)
Fabrique films PVC	25	27,7 (1,69) <b>25,9</b> (14,0 – 152)	13,3 (1,60) <b>12,9</b> (6,01 – 38,8)
Filtres plastisol	18	23,7 (2,70) <b>18,2</b> (6,20 – 202)	20,0 (1,97) <b>16,4</b> (6,56 – 101)
Fabrique composants PVC	12	40,0 (2,48) <b>38,0</b> (11,8 – 196)	24,8 (2,52) <b>23,6</b> (10,3 – 92,4)
Tuyaux caoutchouc	25	194 (2,31) <b>211</b> (44,6 – 1 580)	140 (2,23) <b>130</b> (26,4 – 1 370)
Bottes caoutchouc	21	43,8 (2,59) <b>38,5</b> (5,40 – 326)	33,0 (2,74) <b>26,4</b> (3,40 – 592)
Joints caoutchouc	20	350 (2,11) <b>334</b> (107 – 1 930)	228 (2,00) <b>269</b> (65,6 – 623)
Salons manucure	25	23,3 (3,41) <b>29,3</b> (< LD – 114)	26,0 (2,10) <b>29,9</b> (< LD – 77,2)
<b>Fin de poste</b>			
Production phtalates	9	766 (3,26) <b>1 010</b> (96,3 – 4 680)	402 (2,27) <b>363</b> (157 – 1 750)
Fabrique films PVC	25	24,6 (2,41) <b>26,1</b> (2,30 – 116)	13,1 (2,12) <b>14,7</b> (2,35 – 85,9)
Filtres plastisol	18	30,6 (2,75) <b>30,8</b> (6,40 – 360)	24,1 (2,08) <b>21,2</b> (6,28 – 163)
Fabrique composants PVC	12	61,3 (2,19) <b>63,0</b> (15,8 – 169)	30,9 (2,08) <b>28,8</b> (10,3 – 92,4)
Tuyaux caoutchouc	25	270 (2,25) <b>257</b> (71,9 – 1 790)	168 (2,16) <b>135</b> (46,4 – 1 810)
Bottes caoutchouc	21	62,3 (2,39) <b>56,8</b> (19,2 – 321)	36,4 (2,30) <b>32,1</b> (11,8 – 313)
Joints caoutchouc	20	660 (2,16) <b>643</b> (57,8 – 2 010)	418 (1,76) <b>403</b> (137 – 1 320)
Salons manucure	25	26,0 (3,63) <b>38,0</b> (< LD – 147)	34,2 (1,94) <b>38,3</b> (< LD – 119)

Kwapniewski et al. (2008) ont réalisé une étude auprès de 37 manucures (dont 4 hommes) exposés au DnBP, avec mesure des concentrations urinaires de MnBP, MiBP et MCPP en début et fin de poste, en fonction de l'utilisation ou non de protection collective (ventilation) et/ou individuelle (gants). Les concentrations urinaires ajustées sur la densité urinaire de MnBP et de MCPP sont présentées dans le Tableau 13 :

**Tableau 13 : concentrations urinaires de MnBP dans une population de manucures, selon la présence ou non de moyens de protection (d'après Kwapniewski et al., 2008)**

Médiane (25 <sup>ème</sup> perc – 75 <sup>ème</sup> perc) ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )			
		MnBP	
		Début de poste	Fin de poste
Tous		58,5 (32,3 – 10,7*)	87,2 (33,8 – 160)
Ventilation	Oui	46,2 (30,4 – 93,6)	53,7 (22,0 – 193)
	Non	64,2 (35,3 – 109)	105,6 (50 – 159)
Gants	Oui	91,6 (64,2 – 109)	69,9 (19,4 – 256)
	Non	42,6 (30,4 – 99,4)	87,2 (37,9 – 149)

\* il semble que la valeur renseignée pour le 75<sup>ème</sup> percentile ne soit pas juste

A partir des niveaux urinaires de MnBP rapportés en population générale chez 289 adultes (Blount et al. 2000b), Kohn et al. (2000) ont utilisé une équation de conservation de masse (Annexe 2) pour estimer les doses journalières (DJ) ingérées en DnBP des personnes suivies. Pour le DnBP, la médiane des DJ est de  $1,5 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$  (95<sup>ème</sup> percentile = 7,2 et une étendue : 0,084 à 110). Il est à noter que les paramètres cinétiques du DnBP et des métabolites ont été décrits pour une absorption par voie orale de 2 doses de DnBP et les fractions d'excrétion ont été rapportées sur 24h (Anderson et al. 2001).

Plus récemment, Hines et al. (2011) ont appliqué la même équation pour estimer les DJ chez des personnes professionnellement exposées. Pour cela, les auteurs ont repris leurs travaux réalisés dans 8 secteurs industriels chez 156 salariés et ont comparé les DJ calculées pour les 7 phtalates utilisés aux doses de référence établies par l'US EPA en 2007 et l'EFSA en 2005, respectivement RfDs et TDIs (Hines et al. 2009). Pour le DnBP, 80, 67, 32 et 5 % des DJ estimées sont supérieures à la TDI européenne fixée à  $10 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$  pour respectivement les secteurs des joints de caoutchouc, la production de phtalate, les tuyaux et les bottes de caoutchouc, mais n'atteignent jamais la RfD américaine de  $100 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ .

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

MnBP urinaire	
Traitement médicamenteux	OUI (Fromme et al. 2007; Silva et al. 2007 ; Kelley et al. 2012)  Exemples de médicaments commercialisés au Canada et Etats-Unis contenant du DnBP (Kelley et al. 2012) : Bisacodyl, dilthiazem, mesalamine, Pancrelipase, vaccin oral thyphoïde
Prise alimentaire	Suppléments diététiques (Kelley et al. 2012)
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., 2003 ; Silva et al., 2004) Par ailleurs, les résultats de l'enquête nationale

	américaine NHANES montrent que les concentrations urinaires de MnBP chez les enfants sont largement supérieures aux concentrations rapportées chez les adultes, avec un 95 <sup>ème</sup> percentile de 130 µg.g-1 cr chez les 6-11 ans contre 50,9 µg.g-1 cr dans le groupe des plus de 20 ans (CDC, 2013).
Co-exposition à une ou plusieurs substance(s)	Butylbenzyl-phtalate
Voie(s) d'exposition(s), description de la tâche	NR
Activité physique, effort, ...	NR
Fréquence et durée de l'exposition	NR

Koch et al. ont recueilli des données par questionnaire concernant les habitudes alimentaires, des pratiques d'hygiène du corps, la consommation de boissons, de médicaments, les antécédents médicaux. Ils ne trouvent aucun lien statistique entre ces données et les niveaux de MnBP mesurés (c'est aussi vrai pour les métabolites issus d'autres phtalates) (Koch et al., 2003). En revanche, Fromme et al. qui ont réalisé des mesures sur 8 jours consécutifs, mettent en évidence des niveaux (ajustés sur la créatinine) plus élevés de MnBP après prise de traitements médicamenteux (non précisés) (Fromme et al., 2007).

Le rapport NHANES de 2013 montre une variabilité des concentrations de MnBP liées à l'âge et au sexe, avec des valeurs plus élevées chez l'enfant de moins de 11 ans par rapport aux adultes et des valeurs plus élevées chez les femmes par rapport aux hommes.

## 3.4 Modalités de prélèvement

### 3.4.1 Moment du prélèvement

La cinétique d'élimination des mono-esters issus de la métabolisation du DnBP permet de réaliser des prélèvements en fin de journée.

### 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 prélèvements urinaires doivent être réalisés sur des tubes préalablement testés et, ne présentant pas de niveaux détectables de phtalate. 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.

En cas de prise de certains médicaments contenant du DnBP comme excipient, les concentrations urinaires de MnBP peuvent être augmentées.

La congélation nécessite l'utilisation de flacons en polyéthylène ou polypropylène.

## 4 Biométrie

MnBP urinaire		
Contrôle qualité interlaboratoire	Non renseigné	
	Méthode 1	Méthode 2
Technique d'analyse	Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (ionisation chimique) LC-APCI-MS/MS	Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (ionisation électrospray) LC-ESI-MS/MS
Limite de détection	0,94 µg.L <sup>-1</sup>	0,50 µg.L <sup>-1</sup> (signal/bruit = 3)
Limite de quantification	Non renseigné	5 µg.L <sup>-1</sup> (signal/bruit = 10)
Fidélité	Non renseigné	
Justesse		
Etalon de référence	Solution standard de <sup>13</sup> C <sub>4</sub> MBP	Solution standard : de d <sub>4</sub> -MBP
Traitement avant analyse	Traitement 1h30 à 37°C à la β-glucuronidase <sup>17</sup> . Extraction en phase solide (SPE) des métabolites.	Traitement 1h à 37°C à la β-glucuronidase. Extraction SPE des métabolites.
Références	Silva et al., 2003	Pan et al., 2006

<sup>17</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 MnBP a été mesuré en relation avec des effets sanitaires concernent essentiellement la population générale.

#### Etudes chez l'homme adulte

Quatre publications (équipe de Duty 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 il faut tenir compte que les résultats de ces études ne sont pas indépendants entre eux (Duty et al., 2003 ; Duty et al., 2004, Hauser et al., 2006). Les auteurs ont d'abord mis en évidence, puis confirmé, une diminution de la motilité des spermatozoïdes en lien avec l'augmentation des concentrations urinaires dans le groupe des hommes les plus exposés (20 à 430  $\mu\text{g.L}^{-1}$  pour Duty et al. en 2003, puis 32 à 14 460  $\mu\text{g.L}^{-1}$  pour Hauser et al. en 2006). L'étude de 2006, sur un effectif plus important a montré une relation entre augmentation des concentrations urinaires de MnBP et diminution des concentrations en spermatozoïdes, alors que cette relation dose-réponse n'était pas mise en évidence dans l'étude de 2003 (Duty et al., 2003 ; Hauser et al., 2006).

Cet ensemble d'études est en faveur d'un effet du DnBP sur la qualité spermatique mais ne permet pas de quantifier une éventuelle relation dose-réponse (classes d'exposition trop larges et trop peu d'études lorsque l'on considère que les études de l'équipe Duty et Hauser ne sont pas indépendantes).

Une autre étude ne révèle pas de modification des paramètres spermatiques, ni des niveaux hormonaux chez des hommes autour de 20 ans dont la médiane des concentrations urinaires de MnBP était de 78  $\mu\text{g.L}^{-1}$  et 330  $\mu\text{g.L}^{-1}$  pour le 95<sup>ème</sup> percentile (Jönsson et al., 2005).

Les publications de Duty et al. (2005) en population générale (ou plus précisément population de patients d'un laboratoire d'andrologie) et de Pan et al. (2006), pour des travailleurs exposés concernent l'étude des niveaux hormonaux en lien avec les niveaux d'IBE de plusieurs phtalates. Duty et al. (2005) ne rapportent pas de diminution des niveaux de testostérone en lien avec les concentrations de MnBP (médiane de 14,3  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) et pour des niveaux d'exposition plus élevés (médiane de 548,2  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de créatinine), Pan et al. (2006) rapportent une baisse des concentrations sanguines de testostérone. Ces résultats sont à prendre en compte dans les mécanismes possibles de toxicité sur la fertilité masculine, mais ne permettent pas, à eux seuls, de conclure de façon quantitative.

#### Etude 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 résultats des études de Weuve et al. (2009) et de Itoh et al. (2009) sur les effets potentiels du DnBP chez la femme sont difficilement interprétables car, outre la significativité statistique sur les résultats groupés dans l'une des deux études, l'implication du DnBP dans ce type d'effet n'est pas expliquée. Les auteurs, eux-mêmes n'ont pas conclu sur cette association.

## Etude chez l'enfant en relation avec l'exposition maternelle

Les études de Swan et al. (2005 et 2008) montraient une augmentation de fréquence de la réduction de la distance ano-génitale chez les garçons en lien avec l'augmentation des concentrations urinaires de MnBP chez les mères. Au-dessus de  $31 \mu\text{g.L}^{-1}$  de MnBP urinaire chez la mère, la fréquence d'enfants présentant une réduction de la distance ano-génitale était multipliée par 10 (Swan et al. 2005). Les concentrations urinaires de MnBP ne sont pas rapportées dans la publication de 2008.

Ces résultats sont intéressants mais seule la publication de 2005 présente l'ensemble des résultats ; il n'est donc pas possible de conclure sur une éventuelle concentration critique de MnBP pour la construction d'une VLB. De plus, cette étude, qui porte sur l'exposition environnementale maternelle à plusieurs phtalates, met en évidence des relations significatives entre la réduction de la distance ano-génitale et les concentrations de tous les métabolites de phtalates mesurés, considérés séparément ou par un score d'exposition globale. Enfin, les Odds Ratios les plus élevés sont ceux obtenus avec le MnBP, sans qu'un ajustement ne soit réalisé sur les concentrations des autres métabolites.

**En conclusion**, les résultats des études chez l'humain évoquent un effet reprotoxique du DnBP mise en évidence dans des études chez des hommes et des garçons. Si certains paramètres de reprotoxicité sont en lien avec les concentrations urinaires de MnBP, la plupart des résultats concernant l'altération de la qualité spermatique, est issue d'une seule et même population d'étude et les autres paramètres de fertilité sont encore peu investigués. L'interprétation de ces résultats et surtout le choix d'une éventuelle concentration critique de MnBP dans les urines nécessiterait des données complémentaires.

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

Il n'existe aucune étude en milieu professionnel rapportant à la fois les concentrations urinaires en MnBP et les concentrations atmosphériques en DnBP. Ceci ne permet donc pas d'établir une VLB basée sur une exposition à la VLEP-8h.

D'autre part le CES VLEP recommande une VLEP-8h à partir d'une étude animale (voie orale,  $10 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ) pour laquelle la dose critique de  $2,44 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$  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 DnBP et des métabolites ont été décrits pour une absorption par voie orale uniquement de 2 doses différentes de DnBP 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.

### Proposition de valeurs biologiques de référence

Le DnBP est un polluant ubiquitaire entraînant une imprégnation de la population générale. Le MnBP urinaire est mesuré depuis 1999 dans la population générale aux Etats-Unis dans le cadre de l'étude NHANES.

Les concentrations de cet IBE sont en baisse, comme rapporté dans le Tableau 14. Une diminution en MnBP urinaire a aussi été confirmée dans deux études en population allemande entre 2002 et 2008 (Wittassek et al. 2007 et Goën et al., 2010). Les auteurs indiquent que le DnBP étant de plus en plus substitué par le di-isobutyl phtalate (DiBP), il y aurait un lien entre diminution des concentrations de MnBP et augmentation des concentrations de mono-isobutyl-phtalate.

**Tableau 14 : concentrations urinaires de MnBP rapportées dans l'étude NHANES (d'après CDC, 2013)**

		Médiane $\mu\text{g.L}^{-1}$ ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ cr)	95 <sup>ème</sup> percentile $\mu\text{g.L}^{-1}$ ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ cr)
Sans distinction du sexe (> 20 ans)	1999 - 2000	23,1 (19,5)	143 (91,0)
	2009 - 2010	14,5 (13,5)	68,9 (50,9)
Femmes (indépendamment âge)	1999 - 2000	30,0 (28,8)	167 (134)
	2009 - 2010	16,4 (17,6)	86,2 (70,6)
Hommes (indépendamment âge)	1999 - 2000	23,2 (17,0)	116 (64,7)
	2009 - 2010	15,4 (12,8)	68,9 (45,3)

Il n'existe pas de données françaises rapportant des niveaux urinaires de MnBP sur de grands effectifs en population générale<sup>18</sup>.

Par ailleurs, les données d'autres pays européens comme la Suède (Jönsson et al., 2005) ou l'Allemagne (Wittassek et al., 2007 et Göen et al., 2011) concernent des populations particulières, étudiants uniquement ou hommes uniquement et ne peuvent servir de base à la recommandation de valeurs biologiques de référence.

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 MnBP varient significativement en fonction du sexe et de l'âge. Or, les rapports de cette étude présentent les résultats soit en fonction de l'âge, soit en fonction du sexe, il n'a donc pas été possible de distinguer, dans la classe d'âge d'intérêt (plus de 20 ans), les concentrations urinaires des hommes et des femmes séparément.

La concentration urinaire de 70  $\mu\text{g.L}^{-1}$  ou 50  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de créatinine pour le MnBP correspondant au 95<sup>ème</sup> percentile de la distribution des concentrations urinaires des hommes et des femmes, issu de la campagne 2009-2010 est proposée comme valeur biologique de référence, mais il est à noter que les concentrations urinaires chez les femmes peuvent être plus élevées que chez les hommes.

## 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 prélèvements urinaires doivent être réalisés sur des tubes préalablement testés et, ne présentant pas de niveaux détectables de phtalate. 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., 2009) pour une conservation de plusieurs années.

En cas de prise de certains médicaments contenant du DnBP comme excipient, les concentrations urinaires de MnBP peuvent être augmentées.

<sup>18</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 les résultats ne sont pas encore publiés.*

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

Outre les différences de concentrations attendues entre les hommes et les femmes, certains traitements médicamenteux peuvent être responsables d'une augmentation des concentrations urinaires de MnBP du fait de la présence de DnBP dans leur formulation (excipient).

## 6 Conclusions de l'expertise collective

Les valeurs biologiques proposées pour le suivi de l'exposition au di-n-butyle phtalate sont :

### Mono-butyle phtalate urinaire

VLB basée sur un effet sanitaire	Aucune
VLB basée sur une exposition à la VLEP-8h	Aucune
Valeur biologique de référence	70 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ou 50 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de créatinine

## 7 Références bibliographiques

- 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.
- Beydon D, Payan JP, Grandclaude MC (2010). Comparaison of percutaneous absorption and metabolism of di-n-butylphthalate in various species. *Toxicol In Vitro*. 24(1):71-8
- 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.
- Deutsche Forschungsgemeinschaft. (2013). List of MAK and BAT Values 2013: Maximum Concentrations and Biological Tolerance Values at the Workplace. Wiley-VCH: Weinheim, Ge.
- 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.
- 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.
- Göen, T., Dobler, L. Koschorreck, J., Müller, J., Wiesmüller, G.A., Drexler, H., Kolossa-Gehring, M (2011) *Int J Hyg Env Health*(215):36-45.
- 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.
- 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. Di-n-butyl phthalate in 'European chemical substances information system' (ESIS). Available on website <http://esis.jrc.ec.europa.eu/> consulted 06-27-2013.
- IFA. (2013). Di-n-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 06-27-2013.
- Inserm. (2011) *Reproduction et environnement. Expertise collective*. Institut national de la santé et de la recherche médicale: Paris, Fr. 713 p.

- INRS. (2003). Fiche toxicologique N°98 - Phtalate de dibutyle. Hygiène et sécurité au travail 192: 73-78. Available on website <http://www.inrs.fr/accueil/produits/bdd/doc/fichetox.html?refINRS=FT%2098> consulted 07-03-2013
- IPCS (1997). Di-n-butyl phthalate in "Environmental Health Criteria." Geneva, Switzerland: WHO. Available on website <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc189.htm> consulted 06-27-2013.
- 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.
- 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.
- Kelley, K., Hernandez-Diaz, S, Chaplin, E.L., Hauser, R., Mitchell, A.A (2012). "Identification of Phthalates in Medications and Dietary Supplement Formulations in the United States and Canada". *Environ Health Perspect* 120(3): 379-84.
- Koch HM, Rossbach B, Drexler H and Angerer J. (2003). "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.
- Kohn MC, Parham F, Masten SA, Portier CJ, Shelby MD. (2000) "Human exposure estimates for phthalates". *Environ Health Perspect.*;108(10):440-2.
- Kwapniewski, R., S. Kozaczka, R. Hauser, M. J. Silva, A. M. Calafat and S. M. Duty (2008). "Occupational exposure to dibutyl phthalate among manicurists." *J Occup Environ Med* 50(6): 705-11.
- 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.
- 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.
- Pan G, Hanaoka T, Yoshimura M, et al. (2006). "Decreased serum free testosterone in workers exposed to high levels of di-n-butyl phthalate (DBP) and di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP): a cross-sectional study in China." *Environ Health Perspect* 114(11): 1643-8.
- 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.
- Seckin E, Fromme H, Völkel W. (2009). Determination of total and free mono-n-butyl phthalate in human urine samples after medication of a di-n-butyl phthalate containing capsule. *Toxicol Lett.*, 188(1):33-7.
- 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, 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.
- Tanaka, A., A. Matsumoto and T. Yamaha (1978). "Biochemical studies on phthalic esters. III. Metabolism of dibutyl phthalate (DBP) in animals." *Toxicology* 9(1-2): 109-23.
- Tomita I, Nakamura Y, Yagi Y. Phthalic acid esters in various foodstuffs and biological materials. *Ecotoxicol Environ Saf.* 1977 Sep;1(2):275-87.
- 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.
- Williams DT, Blanchfield BJ. The retention, distribution, excretion, and metabolism of dibutyl phthalate-7-14 C in the rat. *J Agric Food Chem.* 1975 Sep-Oct;23(5):854-8.
- Wittassek M, Wiesmüller GA, Koch HM, Eckard R, Dobler L, Müller J, Angerer J, Schlüter C. Internal phthalate exposure over the last two decades—a retrospective human biomonitoring study. *Int J Hyg Environ Health.* 2007 May;210(3-4):319-33.



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 » le 12 mai 2015.

Au nom des experts du CES

**Le président du CES**

---

# ANNEXES

---

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

		MEP	MEHP	MnBP	MBzP	MMP
OR <sup>19</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)	2,8 (1,1 – 7,0)	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)	3,1 (1,2 – 8,4)	2,2 (0,5 – 9,4)
Motilité	Non-ajusté	1,3 (0,7 - 2,4)	1,4 (0,7 – 2,6)	2,4 (1,3 – 4,7)	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)	2,3 (1,2 - 4,6)	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)	2,0 (1,1 - 3,9)	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)	2,1 (1,1 - 4,0)	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)	2,3 (1,1 – 4,6)	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)	2,4 (1,1 – 5,0)	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)

<sup>19</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 fréquence des rapports sexuels et le tabagisme.

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

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

$$\text{Dose ingérée } (\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}) = \frac{[\text{MnBPu}] \times \text{CE} \times \text{M}(\text{DnBP})}{f \times \text{M}(\text{MnBP})}$$

- CE : taux d'excrétion de créatinine normalisé sur le poids corporel ( $\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ) 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 0,69
- M(DnBP) : poids moléculaire du DnBP 278
- M(MnBP) : poids moléculaire du MnBP 222
- [MnBPu] : concentration urinaire du MnBP ( $\mu\text{g.g}^{-1} \text{ créat.24h}^{-1}$ )

## 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
12/05/2015	02	Version finale (ajout pour signaler la procédure de consultation et ajout de précisions suite aux commentaires reçus.)





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)