

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Valeurs limites d'exposition en milieu professionnel

Le butylbenzyl-phtalate

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Mai 2017

Édition scientifique



anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Valeurs limites d'exposition en milieu professionnel

Le butylbenzyl-phthalate

Avis de l'Anses

Rapport d'expertise collective

Mai 2017

Édition scientifique

Le Directeur général

Maisons-Alfort, le 5 mai 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 effets sur la santé et des méthodes de mesure des niveaux d'exposition sur le lieu de travail pour

Le trichloroéthylène (TCE) (N° CAS : 79-01-6)
Le di-n-butyl-phtalate (DnBP) (N° CAS : 84-74-2)
Le butylbenzyl-phtalate (BBzP) (N° CAS : 85-68-7)
Le 2-éthoxyéthanol (EGEE) (N°CAS 110-80-5)
L'acétate de 2-éthoxyéthyle (EGEEA) (N°CAS 111-15-9)
Le butan-1-ol (N° CAS : 71-36-3)

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.

L'Anses a été saisie le 12 juin 2007 par la direction générale du travail (DGT) afin de mener les travaux d'expertise nécessaires à la fixation de valeurs limites d'exposition professionnelle (VLEP) pour une vingtaine de substances dont le trichloroéthylène (TCE) (saisine n° 2007-SA-0432), le di-n-butyl-phtalate (DnBP) (saisine n° 2012-SA-0223), le butylbenzyl-phtalate (BBzP) (saisine n° 2012-SA-0224). L'agence s'est autosaisie sur le 2-éthoxyéthanol et son acétate (EGEE et EGEEA) (saisine n° 2010-SA-316).

L'Anses a également été saisie le 3 février 2012 par la DGT afin de mener les travaux d'expertise nécessaires à la fixation de valeurs limites d'exposition professionnelle pour le butan-1-ol (saisine n° 2012-SA-0083).

1. CONTEXTE ET OBJET DES SAISINES

- Le trichloroéthylène (TCE)

La France dispose d'une valeur moyenne d'exposition au TCE sur 8 heures indicative de 405 mg.m⁻³ (75 ppm) et d'une valeur limite d'exposition court terme indicative de 1080 mg.m⁻³ (200 ppm) (circulaire¹ de 1983).

Le comité scientifique européen chargé de mener l'expertise en matière de limites d'exposition professionnelle à des agents chimiques (SCOEL²) a recommandé en avril 2009 une VLEP sur 8 heures de 10 ppm (54,7 mg.m⁻³), une valeur sur 15 minutes de 30 ppm (164,1 mg.m⁻³) et l'attribution de la mention « peau ».

- Le di-n-butyl-phtalate (DnBP) et le butylbenzyl-phtalate (BBzP)

La France dispose actuellement d'une valeur moyenne d'exposition pour le DnBP sur 8 heures indicative de 5 mg.m⁻³ (circulaire de 1987³). En revanche, la France ne dispose actuellement pas de valeurs limites d'exposition professionnelle VLEP (sur 8 heures ou 15 minutes) pour le BBzP.

Un rapport d'expertise du SCOEL, soumis à consultation de novembre 2013 à avril 2014, recommandait pour le DnBP une VLEP-8h de 0,05 ppm (0,58 mg.m⁻³) et n'attribuait pas de mention « peau ».

- Le 2-éthoxyéthanol (EGEE) et l'acétate de 2-éthoxyéthyle (EGEEA)

Lors de la consultation organisée par la Commission européenne en 2007 sur les rapports du SCOEL concernant l'EGEE et l'EGEEA, des experts du groupe de travail de l'agence en charge de la saisine «évaluation des expositions françaises aux éthers de glycol » avaient fait part de leur désaccord quant aux valeurs recommandées par le SCOEL. Pour cette raison et conformément à sa mission d'expertise sur les VLEP, l'Anses a décidé de procéder à une réévaluation des effets toxiques du 2-éthoxyéthanol et de son acétate afin que le ministère du travail puisse actualiser si nécessaire les valeurs limites indicatives européennes fixées par la directive 2009/161/UE. Dans l'attente des résultats des travaux d'expertise, les valeurs fixées dans la directive européenne ont été transposées dans le droit national notamment *via* le décret n°2012-746 du 9 mai 2012. Ainsi la France dispose actuellement d'une VLEP-8h contraignante pour l'EGEE de 8 mg.m⁻³ (2 ppm) et d'une VLEP-8h contraignante pour l'EGEEA de 11 mg.m⁻³ (2 ppm). Ces composés font tous deux l'objet d'une mention « peau ».

- Le butan-1-ol

La France dispose actuellement d'une valeur limite d'exposition court terme indicative pour le butan-1-ol de 150 mg.m⁻³ (soit 50 ppm) (circulaire⁴ de 1982).

¹ Circulaire du 1er décembre 1983 complétant l'annexe de la circulaire du 19 juillet 1982 relative aux valeurs admises pour les concentrations de certaines substances dangereuses dans l'atmosphère des lieux de travail

² Scientific Committee on Occupational Exposure Limits

³ Circulaire du 13 mai 1987 complétant l'annexe de la circulaire du 19 juillet 1982 relative aux valeurs admises pour les concentrations de certaines substances dangereuses dans l'atmosphère des lieux de travail

⁴ Circulaire du 19 juillet 1982 relative aux valeurs admises pour les concentrations de certaines substances dangereuses dans l'atmosphère des lieux de travail

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

Les expertises ont été réalisées dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

Les expertises collectives relèvent du domaine de compétences du comité d'experts spécialisés (CES) « Expertise en vue de la fixation de valeurs limites à des agents chimiques en milieu professionnel » (CES-VLEP) ». L'Anses a confié les travaux d'expertise aux groupes de travail « effets sanitaires » (mandat 2010-2013), « métrologie » (mandat 2010-2013), à des rapporteurs et à des agents de l'Anses. Les travaux ont été présentés au CES-VLEP tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques.

Le présent avis se fonde pour les aspects scientifiques :

- Concernant le **trichloroéthylène** 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 effets sur la santé et des méthodes de mesure des niveaux d'exposition sur le lieu de travail pour le trichloroéthylène (avril 2013) ». Le CES-VLEP (mandat 2010-2013) a adopté la synthèse et les conclusions de l'expertise collective le 12 janvier 2012. Le rapport et la note d'expertise collective ont fait l'objet d'une consultation publique du 18/10/2012 au 20/12/2012. Les personnes ou organismes ayant contribué à la consultation publique sont listés en annexe du rapport d'expertise collective. Les commentaires reçus ont été examinés et discutés par le CES-VLEP (mandat 2010-2013) qui a adopté la version finalisée le 4 avril 2013.
- Concernant le **di-n-butyl-phtalate** 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 effets sur la santé et des méthodes de mesure des niveaux d'exposition sur le lieu de travail pour le di-n-butyl-phtalate (décembre 2015) ». Le rapport ainsi que la synthèse et les conclusions de l'expertise collective ont été adoptées par le CES-VLEP (mandat 2010 - 2013) le 10 octobre 2013. Ce rapport et les conclusions ont fait l'objet d'une consultation publique du 27/08/2014 au 28/10/2014. Aucun commentaire n'a été reçu lors de la consultation. Le rapport ainsi que la note d'expertise collective ont été adoptés par le CES-VLEP (mandat 2014-2017) lors de la séance du 14 décembre 2015.
- Concernant le **butylbenzyl-phtalate** 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 effets sur la santé et des méthodes de mesure des niveaux d'exposition sur le lieu de travail pour le butylbenzyl-phtalate (mars 2016) ». Le rapport ainsi que la synthèse et les conclusions de l'expertise collective ont été adoptés par le CES-VLEP (mandat 2014 - 2017) le 13 mai 2014. Ce rapport et les conclusions ont fait l'objet d'une consultation publique du 12/03/2015 au 12/05/2015. Les personnes ou organismes ayant contribué à la consultation publique sont listés en annexe du rapport d'expertise collective. Les commentaires reçus ont été examinés et discutés par le CES-VLEP qui a adopté la version finalisée le 7 mars 2016.
- Concernant le **2-éthoxyéthanol et l'acétate de 2-éthoxyéthyle** sur le rapport intitulé : « Expertise en vue de la fixation de valeurs limites d'exposition à des agents chimiques en milieu professionnel relatif à l'évaluation des effets sur la santé et des méthodes de mesure des niveaux d'exposition sur le lieu de travail pour le 2-éthoxyéthanol et l'acétate de 2-éthoxyéthyle (avril 2013) ». Le rapport ainsi que la synthèse et les conclusions de l'expertise collective ont été adoptés par le CES-VLEP (mandat 2010 - 2013) le 9 septembre 2011. Le rapport a fait l'objet d'une consultation publique du 18/10/2012 au 20/12/2012. Aucun commentaire n'a été reçu lors de la consultation. Le CES-VLEP (mandat 2010-2013) a finalement adopté la version finalisée le 4 avril 2013.

- Concernant le **butan-1-ol** 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 effets sur la santé et des méthodes de mesure des niveaux d'exposition sur le lieu de travail pour le butan-1-ol (octobre 2015) ». Le rapport ainsi que la synthèse et les conclusions de l'expertise collective ont été adoptés par le CES-VLEP (mandat 2014-2017) le 4 juillet 2014. Ce rapport et les conclusions ont fait l'objet d'une consultation publique du 11/05/2015 au 13/07/2015. Les personnes ou organismes ayant contribué à la consultation publique sont listés en annexe du rapport d'expertise collective. Le commentaire reçu a été examiné et discuté par le CES-VLEP qui a adopté la version finalisée le 12 octobre 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).

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

Pour chaque substance objet du présent avis, les tableaux n°1 et 2 reprennent de façon synthétique les recommandations du CES VLEP en matière de VLEP, élaborées conformément à son guide méthodologique⁵, à savoir :

- les VLEP recommandées sur une durée de 8 heures (VLEP-8h) ; il s'agit de la limite de la moyenne, pondérée en fonction du temps, de la concentration atmosphérique d'un agent chimique dans la zone de respiration d'un travailleur au cours d'un poste de travail 8 heures. Dans l'état actuel des connaissances scientifiques (en toxicologie, médecine, épidémiologie, etc.), la VLEP-8h est censée protéger d'effets sur la santé, à moyen et long termes, les travailleurs exposés à l'agent chimique considéré régulièrement et ce, pendant la durée d'une vie de travail ;
- les VLEP recommandées sur une durée de 15 minutes (VLCT-15 min) ; il s'agit de la limite de la moyenne, pondérée en fonction du temps, de la concentration atmosphérique d'un agent chimique dans la zone de respiration d'un travailleur sur une période de référence de 15 minutes pendant le pic d'exposition quelle que soit sa durée. Elle vise à protéger les travailleurs des effets néfastes sur la santé (effets toxiques immédiats ou à court terme, tels que des phénomènes d'irritation), dus à des pics d'exposition ;
- l'attribution éventuelle d'une mention « peau » lorsqu'une pénétration cutanée significative a été identifiée. Cette mention indique la nécessité de prendre en compte la voie d'exposition cutanée dans l'évaluation de l'exposition et, le cas échéant, de mettre en œuvre des mesures de prévention appropriées (telles que le port de gants de protection). En effet, la pénétration cutanée des substances n'est pas prise en compte pour la détermination des niveaux de valeurs limites atmosphériques et peut donc potentiellement entraîner des effets sanitaires indépendamment du respect de ces dernières ;

⁵ Pour plus de détails se reporter au document de référence pour la construction et la mesure de valeurs limites d'exposition à des agents chimiques en milieu professionnel. Maisons-Alfort: Anses; 2014. 122 p.

- l'attribution éventuelle d'une mention « ototoxique » signalant un risque d'atteinte auditive en cas de co-exposition au bruit et à la substance en dessous des limites d'exposition recommandées afin que les préventeurs mettent en place des mesures appropriées (collective, individuelle et médicale).

Avis de l'Anses

Saisines n° 2007-SA-0432, 2012-SA-223, 2012-SA-0224, 2010-SA-0316, 2012-SA-0083

Éléments de proposition pour fixer des VLEP

- Tableau n°1 : Tableau de synthèse relatif aux recommandations de VLEP-8h

	Trichloroéthylène	DnBP	BBzP	EGEE / EGEEA	Butan-1-ol
VLEP-8h	VLEP-8h pragmatique ⁶ de 40 mg.m ⁻³ (soit 7 ppm)	2 mg.m ⁻³	13 mg.m ⁻³	1 ppm (soit 3,75 mg.m ⁻³ pour l'EGEE et 5,49 mg.m ⁻³ pour l'EGEEA)	Aucune ⁷
Etude-clé Effet critique	Maltoni et al. (1988) ⁸ , néphrotoxicité	Lehmann et al. (2004) ⁹ , diminution de la concentration de testostérone testiculaire chez le fœtus suite à une exposition <i>in utero</i>	NTP (1997) ¹⁰ , altération des organes reproducteurs et de la fertilité	Barbee et al. 1984 ¹¹ , hématotoxicité	-
Point de départ	NOAEC _{ADJ} de 87,5 ppm (après ajustement temporel du NOAEC de 100 ppm retenu à partir de l'étude animale par inhalation) ;	NOAEL _{HEC inhalé} de 17,6 mg.m ⁻³ (calculé après ajustement allométrique et extrapolation voie à voie à partir du NOAEL de 10 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹ identifié pour une administration par voie orale chez le rat dans l'étude)	NOAEL _{HEC inhalé} de 352,6 mg.m ⁻³ (calculé après ajustement allométrique et extrapolation voie à voie à partir du NOAEL identifié de 200 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹ pour une administration par voie orale chez le rat dans l'étude)	NOAEL de 100 ppm (étude subchronique chez des lapins par inhalation)	-
Facteurs d'ajustement	FA = FA _A * FA _H = 2.5 * 5 (variabilités inter et intra- espèces)	FA = FA _A * FA _H = 3 * 3 (variabilités inter et intra- espèces)	FA = FA _A * FA _H * FA _S = 3 * 3 * 3 (variabilités inter et intra- espèces, transposition)	FA = FA _A * FA _H * FA _S = 3*10*3 (variabilités inter et intra- espèces, transposition)	-

⁶ La VLEP-8h pragmatique recommandée n'a pas pour objectif de protéger des effets cancérogènes du TCE qui est considéré dans l'expertise comme un cancérogène sans seuil d'effet mais constitue un outil pour limiter les niveaux d'exposition sur les lieux de travail.

⁷ Pas de recommandation de VLEP-8h en l'absence d'effet systémique spécifique constaté à moyen ou long terme à partir des données disponibles

⁸ Maltoni C, Lefemine G, Cotti G, et al. (1988). Long-term carcinogenicity bioassays on trichloroethylene administered by inhalation to Sprague-Dawley rats and Swiss mice and B3C6F1 mice. Annals of the New York Academy of Sciences, 534: 316-342.

⁹ Lehmann KP, Phillips S, Sar M, Foster PM, Gaido KW (2004). Dose-dependent alterations in gene expression and testosterone synthesis in the fetal testes of male rats exposed to di (n-butyl) phthalate. Toxicol Sci.;81(1):60-8. Epub 2004 May 12.

¹⁰ NTP. 1997. Toxicology and carcinogenesis studies of butyl benzyl phthalate in F344/N rats (feed studies). Report No. 458, NIH publication No. 97-3374. (National Toxicology Program, USA) 195p.

¹¹ Barbee SJ, Terrill JB, DeSousa DJ, Conaway CC (1984): Subchronic inhalation toxicology of ethylene glycol monoethyl ether in the rat and rabbit. Environmental Health Perspectives 57: 157-163.

Avis de l'Anses

Saisines n° 2007-SA-0432, 2012-SA-223, 2012-SA-0224, 2010-SA-0316, 2012-SA-0083

	Trichloroéthylène	DnBP	BBzP	EGEE / EGEEA	Butan-1-ol
			subchronique à chronique)	subchronique à chronique)	

- **Tableau n°2 : Tableau de synthèse relatif aux recommandations de VLCT-15min et des mentions à attribuer**

	Trichloroéthylène	DnBP	BBzP	EGEE / EGEEA	Butan-1-ol
VLCT-15 min	Recommandation de ne pas dépasser sur 15 minutes la concentration correspondant à 5 fois celle de la VLEP-8h ¹² soit une VLCT-15 min pragmatique de 200 mg.m ⁻³ (environ 35 ppm)	Recommandation de ne pas dépasser sur 15 minutes la concentration correspondant à 5 fois celle de la VLEP-8h soit une VLCT-15 min pragmatique de 10 mg.m ⁻³	Recommandation de ne pas dépasser sur 15 minutes la concentration correspondant à 5 fois celle de la VLEP-8h soit une VLCT-15 min pragmatique de 65 mg.m ⁻³	Recommandation de ne pas dépasser sur 15 minutes la concentration correspondant à 5 fois celle de la VLEP-8h soit une valeur pragmatique de 5 ppm (18,75 mg.m ⁻³ pour l'EGEE et 27,45 m.m ⁻³ pour l'EGEEA)	100 mg.m ⁻³
Etude-clé / Effet critique	-	-	-	-	Sterner et al. (1949) ¹³ , irritation oculaire
Point de départ	-	-	-	-	LOAEL de 100 ppm (soit 303 mg.m ⁻³)
Facteurs d'ajustement	-	-	-	-	FA _L = 3 (passage d'un LOAEL à un NOAEL)
Mention « peau »	Oui	Non	Oui	Oui	Non
Mention « ototoxique »	Non ¹⁴	-*	-*	-*	Non

¹² Pour plus de détails, se reporter au rapport d'expertise collective en vue de la fixation de valeurs limites d'exposition à des agents chimiques en milieu professionnel de décembre 2008, portant sur les recommandations relatives aux valeurs limites d'exposition professionnelle en vue de limiter l'importance et le nombre de pics d'exposition dans une journée de travail (partie 1).

¹³ Sterner, J. H., Crouch, H. C., Brockmyre, H. F., Cusack, M. (1949). A ten year study of butyl alcohol exposure. Am Ind Hyg Assoc 10, 53-59.

¹⁴ Pour plus de détails, se reporter au « rapport d'expertise collective en vue de la fixation de valeurs limites d'exposition à des agents chimiques en milieu professionnel » relatif à l'application aux substances déjà expertisées par le CES VLEP du document méthodologique pour prévenir des effets de la coexposition professionnelle au bruit et aux substances chimiques de juillet 2013

Avis de l'Anses
Saisines n° 2007-SA-0432, 2012-SA-223, 2012-SA-0224, 2010-SA-0316, 2012-SA-0083

-* le DnBP, le BBzP, l'EGEE et l'EGEEA n'ont pas fait l'objet d'une évaluation spécifique par le CES-VLEP quant à la nécessité d'attribuer une mention « ototoxique » ; cependant dans la mesure où les données de la littérature ne mettent pas en évidence d'ototoxicité pour ces substances, l'attribution de la mention « ototoxique » ne s'avère a priori pas pertinente.

Le tableau n°3 présente de façon synthétique les méthodes recommandées pour la mesure des expositions dans l'air des lieux de travail.

En effet, le CES-VLEP évalue les méthodes de référence applicables pour la mesure des niveaux d'exposition sur le lieu de travail. La qualité de ces méthodes et leur applicabilité à la mesure des expositions aux fins de comparaison à une VLEP ont été évaluées notamment sur leur conformité aux exigences de performance de la NF EN 482¹⁵ et de leur niveau de validation. Suite à cette évaluation, les méthodes peuvent être classées en différentes catégories :

- catégorie 1A : méthode permettant la mesure d'une VLEP contraignante. La méthode est reconnue et validée (l'ensemble des critères de performance de la NF-EN 482 sont satisfaits) ;
- catégorie 1B : méthode permettant la mesure d'une VLEP contraignante sous conditions de préciser quelques points de la méthode (une grande majorité des critères de performance de la NF-EN 482 sont satisfaits) ;
- catégorie 2 : méthode permettant la mesure d'une VLEP indicative. Il manque des données pour que la méthode puisse être validée ;
- catégorie 3 : la méthode n'est pas recommandée et ne doit pas être utilisée à des fins de comparaison aux VLEP.

Il est à noter que l'évaluation des méthodes de mesure pour le trichloroéthylène, le 2-éthoxyéthanol et son acétate a été effectuée selon le document de référence du CES-VLEP en vigueur en 2010-2013. Les méthodes étaient classées, en fonction de leur conformité à la norme NF EN 482, selon deux catégories :

- la catégorie 1 pour les méthodes validées : la majorité des critères de validation était satisfaite (étendue de mesure, incertitudes, sensibilité, conservation des prélèvements...)
- la catégorie 2 pour les méthodes indicatives : des critères majeurs de validation n'étaient pas précisés dans les protocoles ou pas suffisamment explicités.

Ces trois tableaux s'appuient sur les rapports d'expertise collective spécifiques à chaque substance (répertoriés en section 2 de l'avis) qui détaillent le profil toxicologique de la substance, les méthodes de construction des valeurs recommandées, l'évaluation de la pertinence des mentions « peau » et « ototoxique » ainsi que l'évaluation des méthodes de mesure recommandées.

¹⁵ NF EN 482 : Exposition sur les lieux de travail – Exigences générales concernant les performances des procédures de mesure des agents chimiques.

Éléments de proposition pour fixer une méthode de mesure

Tableau n°3 : Tableau de synthèse des méthodes de mesure recommandées dans l'air des lieux de travail

Substance concernée	Méthode	Protocoles similaires	Catégorie		
			pour contrôle technique réglementaire de la		pour le suivi des expositions court terme
			VLEP-8h	VLCT-15min ¹⁶	
Trichloroéthylène	Méthode 1 : Prélèvement actif sur tube de charbon actif – désorption CS ₂ – analyse par GC/FID	INRS MétroPol 029 : 2009 -NIOSH 1022: 1994 - OSHA 1001: 1999 -MTA/MA-013/R87 : 1987 - MTA/MA-045/A00 : 2000 -BGI 505-65 : 2005 -BGIA 6600 : 2000 MDHS 96 ⁽¹⁷⁾ :2000 -AFNOR NF ISO 16200 -1 : 2001 ⁽¹⁷⁾ -AFNOR NF X 43-267 : 2004 ⁽¹⁷⁾	1		
DnBP	Méthode 2 : prélèvement actif sur tube OVS – désorption toluène – analyse par GC/FID	OSHA 104 : 1994	1 B <u>Si présence uniquement phase gazeuse</u>		
	Méthode 5 : prélèvement actif sur une membrane en acétate de cellulose suivie d'un tube de gel de silice – désorption méthanol – analyse par HPLC/UV	IFA 8387 : 2009 - DFG méthode 2 : 2006	2	1 B	
			<u>Si présence d'une phase mixte (aérosol + gaz) ou aérosol</u>		
	Méthode 3 : Prélèvement sur membrane en ester de cellulose - Désorption dans CS ₂ - Analyse par GC/FID	NIOSH NMAM 5020	3 (méthode non recommandée)	1B	
			<u>Si présence phase aérosol uniquement</u>		

¹⁶ Les critères de validation et de performance pour les méthodes destinées au suivi des VLCT sont définis par la norme NF EN 482 sur un intervalle de 0,5 à 2 fois la VLCT. La réglementation française impose, dans le cas de contrôle technique de la valeur limite, que la méthode de mesure permette de mesurer le dixième de la VLCT-15min (Arrêté du 15 décembre 2009 relatif aux contrôles techniques des valeurs limites d'exposition professionnelle sur les lieux de travail et aux conditions d'accréditation des organismes chargés des contrôles, publié au JO du 17 décembre 2009). De ce fait, lorsque la méthode ne permet pas de mesurer le dixième de la VLCT-15min, celle-ci ne peut pas être classée en catégorie 1A ni 1B à des fins de contrôle réglementaire de la VLCT-15min. Par contre, elle pourrait être classée en catégorie 1A ou 1B uniquement à des fins d'évaluation de l'exposition professionnelle.

¹⁷ Ces protocoles sont destinés au prélèvement et dosage de la plupart des composés organiques volatils, et définissent des exigences générales à satisfaire pour valider la méthode de prélèvement et d'analyse. Les protocoles MDHS 96, NF ISO 16200-1 et AFNOR NF X 43-267 renvoient au protocole NIOSH 1022 pour le prélèvement et l'analyse du trichloroéthylène.

Avis de l'Anses
Saisines n° 2007-SA-0432, 2012-SA-223, 2012-SA-0224, 2010-SA-0316, 2012-SA-0083

Substance concernée	Méthode	Protocoles similaires	Catégorie		
			pour contrôle technique réglementaire de la		pour le suivi des expositions court terme
			VLEP-8h	VLCT-15min ¹⁶	
BBzP	Aucune méthode de mesure n'est recommandée : les deux méthodes de mesures recensées ont été classées en catégorie 3				
EGEE / EGEEA	Méthode 1 : Prélèvement actif sur tube de charbon actif- désorption solvant – analyse par GC/FID	OSHA 79 : 1990 - OSHA 53 : 1985 - NIOSH 1403, issue 3 : 2003 - INRS MetroPol 022/V01 : 2009 - INSHT MTA/MA-017/A89 : 1989 <i>MDHS 96 : 2000¹⁸ - Afnor NF X 43-267 : 2004¹⁸ - Afnor NF ISO 16200-1 : 2001⁽¹⁸⁾</i>	1		
Butan-1-ol	Méthode 3 : Prélèvement actif sur tube charbon actif - Désorption isopropanol/CS ₂ - Analyse GC/FID	NIOSH 1401 (1984, rév. 1994), NIOSH 1405 (2003), IRSST90-1 (1988), OSHA 7 (2000), MDHS 96 (2000), ISO 16200-1 (2001)	-	1 B	
	Méthode 4 : Prélèvement actif sur tube charbon actif - Désorption isobutanol/CS ₂ - Analyse GC/FID	MTA/MA-016/A89 (1989)	-	1 B	
	Méthode 5 : Prélèvement actif sur tube charbon actif - Désorption dichlorométhane/CS ₂ - Analyse GC/FID	MétroPol 077/V01.02 (2013)	-	1 B	

¹⁸ Ces protocoles sont destinés au prélèvement et dosage de la plupart des composés organiques volatils. Le protocole MDHS 96, la norme Afnor NF X 43-267 et la norme NF ISO 16200-1 renvoient au protocole NIOSH 1403 pour la mise en œuvre de la méthode et les données de validation.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

Conformément aux conclusions de son Comité d'Experts Spécialisés (CES) « Expertise en vue de la fixation de valeurs limites à des agents chimiques en milieu professionnel », l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) recommande pour :

- **le trichloroéthylène (TCE)**

- la fixation d'une VLEP-8h pragmatique de 40 mg.m^{-3} (soit 7 ppm) ; La VLEP-8h pragmatique recommandée n'a pas pour objectif de protéger des effets cancérogènes du TCE mais constitue un outil pour limiter les niveaux d'exposition sur les lieux de travail.
- de ne pas dépasser sur 15 minutes la concentration correspondant à 5 fois celle de la VLEP-8h soit une VLCT-15 min pragmatique de 200 mg.m^{-3} (environ 35 ppm) ;
- d'attribuer la mention « peau » ;
- la méthode de mesure, classée en catégorie 1 pour les VLEP recommandées, consistant à effectuer un prélèvement par pompage sur tube de charbon actif, une désorption par le disulfure de carbone puis une analyse par chromatographie gazeuse avec détection par ionisation de flamme (GC/FID) ;

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

- la fixation d'une VLEP-8h de 2 mg.m^{-3} ;
- de ne pas dépasser sur 15 minutes la concentration correspondant à 5 fois celle de la VLEP-8h soit une VLCT-15 min pragmatique de 10 mg.m^{-3} ;
- trois méthodes de mesure selon la forme physique sous laquelle se trouve le DnBP et selon le type de VLEP à contrôler :
 - lorsque le DnBP est présent sous la seule forme gazeuse : la méthode consistant à effectuer un prélèvement actif sur tube OVS, suivi d'une désorption dans le toluène puis d'une analyse par GC/FID. Cette méthode est partiellement validée et classée en catégorie 1B pour le contrôle technique de la VLEP-8h et de la VLCT-15min pragmatique.
 - lorsque le DnBP est présent sous forme d'une phase mixte ou d'un aérosol seul : la méthode consistant à effectuer un prélèvement actif sur une membrane en acétate de cellulose suivie d'un tube de gel de silice, suivi d'une désorption dans le méthanol puis d'une analyse par HPLC/UV. Cette méthode est indicative et classée en catégorie 2 pour la VLEP-8h et partiellement validée et classée en catégorie 1B pour la VLCT-15min pragmatique.
 - lorsque le DnBP est présent sous forme d'un aérosol seul : la méthode consistant à effectuer un prélèvement sur membrane en ester de cellulose, suivi d'une désorption dans le disulfure de carbone puis une analyse par GC/FID. Cette méthode est partiellement validée et classée en catégorie 1B uniquement pour le suivi des expositions court terme. Elle n'est pas recommandée pour le suivi de la VLEP-8h ni de la VLCT-15min pragmatique.

- **le butylbenzyl-phthalate (BBzP)**
 - la fixation d'une VLEP-8h de 13 mg.m⁻³ ;
 - de ne pas dépasser sur 15 minutes la concentration correspondant à 5 fois celle de la VLEP-8h soit une VLCT-15 min pragmatique de 65 mg.m⁻³ ;
 - d'attribuer la mention « peau » ;
 - aucune méthode de mesure ;
- **le 2-éthoxyéthyle (EGEE) et l'acétate de 2-éthoxyéthyle (EGEEA)**
 - la fixation d'une VLEP-8h de 1 ppm (soit 3,75 mg.m⁻³ pour l'EGEE et 5,49 mg.m⁻³ pour l'EGEEA) ;
 - de ne pas dépasser sur 15 minutes la concentration correspondant à 5 fois celle de la VLEP-8h soit une VLCT-15 min pragmatique de 5 ppm (18,75 mg.m⁻³ pour l'EGEE et 27,45 mg.m⁻³ pour l'EGEEA) ;
 - d'attribuer d'une mention « peau » ;
 - la méthode de mesure consistant à effectuer un prélèvement par pompage sur tube de charbon actif, suivi d'une désorption solvant puis d'une analyse par GC/FID. Cette méthode est classée en catégorie 1 pour les VLEP recommandées ;
- **le butan-1-ol**
 - la fixation d'une VLCT-15min de 100 mg.m⁻³ ;
 - trois méthodes de mesure classées en catégorie 1B pour la VLCT-15 min recommandée (à la fois pour le suivi technique réglementaire et le suivi des expositions) consistant à effectuer un prélèvement actif sur tube charbon actif, suivi d'une désorption soit isopropanol/disulfure de carbone soit isobutanol/disulfure de carbone soit encore dichlorométhane/disulfure de carbone, puis d'une analyse GC/FID.

Par ailleurs, l'Anses tient à rappeler que :

- la substitution des substances cancérigènes, mutagènes et toxiques pour la reproduction par des substances ou des procédés moins nocifs est une démarche prioritaire pour la prévention du risque chimique sur les lieux de travail en France; cette démarche prioritaire de substitution doit donc être appliquée au trichloroéthylène¹⁹, au di-n-butyl-phthalate, au butylbenzyl-phthalate, au 2-éthoxyéthanol et à l'acétate de 2-éthoxyéthyle^{20,21};

¹⁹ Le trichloroéthylène est classé cancérigène de catégorie 1B (Carc.1B ; H350 – peut provoquer le cancer) selon le règlement (CE) N°1272/2008 du parlement européen et du conseil du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges et cancérigène de catégorie 1 (cancérigène pour l'Homme) par le Centre International de Recherche sur le Cancer.

²⁰ Ces 4 substances sont classées toxiques pour la reproduction de catégorie 1B (Repr. 1B ; H360 – peut nuire à la fertilité ou au fœtus) selon le règlement (CE) N°1272/2008 du parlement européen et du conseil du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges. Le DnBP et le BBzP sont également classés en tant que potentiel perturbateurs endocriniens de catégorie 1 (cf rapport du BKH de 2002, http://ec.europa.eu/environment/chemicals/endocrine/strategy/substances_en.htm et du DHI de 2007, http://ec.europa.eu/environment/chemicals/endocrine/pdf/final_report_2007.pdf).

²¹ Il est à noter la présence sur le site « substitution-cmr » de l'Anses d'exemples de substitution pour les substances concernées par cet avis ; l'Anses rappelle qu'elle ne réalise aucune évaluation des risques des substituts identifiés sur le site. 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.

- lorsque la substitution est impossible, l'exposition doit être réduite à un niveau aussi bas que techniquement possible ;
- Les femmes enceintes ou allaitantes ne doivent pas être affectées ou maintenues à un poste de travail exposant à des agents toxiques pour la reproduction ;
- Les travailleurs doivent être formés à la sécurité et informés des risques pour la santé et la sécurité des agents chimiques dangereux se trouvant sur leur lieu de travail et plus spécifiquement des effets des substances toxiques pour la reproduction notamment afin de sensibiliser les femmes quant à la nécessité de déclarer le plus précocement possible leur état de grossesse.

Enfin l'Anses recommande de poursuivre ces travaux d'expertise par le développement de valeurs biologiques pouvant être utilisées dans le cadre de la surveillance biologique des expositions en milieu professionnel pour le trichloroéthylène, le di-n-butyl-phtalate, le butylbenzyl-phtalate, le 2-éthoxyéthanol et l'acétate de 2-éthoxyéthyle. Ces valeurs viendraient ainsi compléter le dispositif réglementaire français de prévention du risque chimique sur les lieux de travail.

Dr Roger GENET

MOTS-CLÉS

VLEP, valeurs limites, niveaux d'exposition, milieu professionnel, agents chimiques, expertise, effets sur la santé, métrologie, méthodes de mesure, lieu de travail, trichloroéthylène, 2-éthoxyéthanol, acétate de 2-éthoxyéthyle, di-n-butyl-phtalate, butylbenzyl-phtalate, butan-1-ol.

OEL, limit values, exposure levels, occupational, chemicals, expertise, health effects, metrology, measurement methods, workplace, trichloroethylene, 2-ethoxyethanol, 2-ethoxyethyl acetate, di-n-butyl phthalate, butylbenzyl phthalate, butan-1-ol.

ANNEXE

**Eléments d'information complémentaires
pouvant être utiles aux gestionnaires des risques**

• **pour le trichloroéthylène (TCE)**

Usages et expositions professionnelles

Le TCE est employé essentiellement comme solvant (dégraissage des pièces métalliques, formulation d'adhésifs, de peintures, de vernis, d'encres, de colles...) et comme intermédiaire réactionnel²². Les autres usages renseignés concernent l'utilisation comme solvant pour le nettoyage à sec des textiles, la tannerie et l'industrie pharmaceutique. En 2003, 67% du TCE étaient utilisés comme produit intermédiaire.

Le TCE est produit ou importé en Europe entre 10 000 et 100 000 tonnes par an, essentiellement pour un usage intermédiaire de synthèse (d'après les informations disséminées sur le site de l'ECHA²³). D'après le site Internet du Ministère de l'économie des finances et de l'industrie, de 2004 à 2006, au niveau mondial, les exportations françaises de trichloroéthylène sont passées de 10 724 tonnes à 2 512 tonnes alors que les importations se sont stabilisées autour de 7 000 tonnes²³.

En France, selon les résultats de l'enquête Surveillance Médicale des Expositions aux Risques Professionnels (Sumer) de 2010, il semble que le nombre de salariés exposés au TCE ait été divisé par 3 entre 2003 et 2010, passant de 153 600 à 59 100, grâce à l'utilisation de produits de substitution tels que les produits lessiviels comme dégraissants²⁴.

Le TCE est inscrit à l'annexe XIV du règlement REACH n° 1907/2006/CE (entrée n°15), ce qui signifie que toute utilisation sur le marché européen est sujette à une demande préalable d'autorisation auprès de l'Agence européenne des produits chimiques (ECHA).

Dix-neuf demandes d'autorisation ont été déposées. A défaut d'autorisation accordée, toute utilisation de la substance est interdite depuis le 21 avril 2016 sauf exemptions définies par le règlement REACH²⁵ (tel que l'usage comme intermédiaire de synthèse isolé). L'usage du TCE en tant que solvant est ainsi strictement encadré par la procédure d'autorisation depuis avril 2016.

Les détenteurs d'une autorisation doivent satisfaire aux exigences de la décision et indiquer le numéro d'autorisation sur l'étiquette avant de mettre la substance (ou le mélange contenant la substance) sur le marché. Les utilisateurs en aval d'une substance autorisée doivent également se conformer à la décision et notifier à l'ECHA l'utilisation de la substance dans un délai de trois mois suivant la première livraison de la substance.

²² INERIS, 2007. Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : TRICHLOROETHYLENE, 33p. (<http://rsde.ineris.fr/>).

²³ <https://echa.europa.eu/fr/brief-profile/-/briefprofile/100.001.062>, consulté le 30 mars 2017

²⁴ Léonard M. Les expositions aux produits chimiques cancérigènes en 2010. Références en Santé au Travail n° 135. Septembre 2013.

²⁵ Voir articles 2 et 56 du règlement REACH

- **pour le di-n-butyl-phtalate (DnBP) et pour le benzylbutyl-phtalate (BBzP)**

Usages et expositions professionnelles du di-n-butyl-phtalate (DnBP)

La production et/ou importation du DnBP est comprise entre 1 000 et 10 000 tonnes par an dans l'Union européenne et sert notamment à la fabrication de produits chimiques de laboratoire, d'explosifs, de polymères pour la fabrication de matériaux plastiques, de produits de nettoyage lors de la fabrication de produits métalliques et en caoutchouc ainsi qu'en tant qu'intermédiaire de synthèse²⁶.

Les données récentes montrent toutefois que la production de DnBP en Europe est en constante diminution depuis 1994. En 2008, la production de DnBP ne représentait que 1% de la production totale de phtalates en Europe de l'Ouest, qui s'élève à un million de tonnes par an d'après le site de l'ECPI (European Council for Plasticisers and Intermediates) (European Council for Plasticisers and Intermediates 2013). Au total, 42 secteurs d'activités ont été recensés comme étant potentiellement concernés par le DnBP en France. L'utilisation la plus importante du DnBP est en tant que plastifiant dans les résines et les polymères tels que l'acétate de polyvinyle (PVA)²⁷. Le DnBP est également utilisé comme plastifiant dans les encres d'impression pour l'industrie du papier, les adhésifs, comme plastifiant et/ou solvant dans les mastics, les enduits, les peintures à la nitrocellulose (notamment dans l'automobile et pour les meubles), les revêtements et les fibres de verre²⁸.

Il n'existe pas de données précises en France concernant le nombre de travailleurs exposés au DnBP. L'enquête Surveillance médicale des expositions aux risques professionnels (Sumer) de 2010, rapporte un nombre de salariés exposés aux phtalates en général. Selon les résultats de cette enquête, 58 100 salariés déclarent être exposés aux phtalates soit 0,3% de l'effectif total ayant répondu au questionnaire dont 16 900 salariés déclarant être exposés plus de 20 heures par semaine²⁹.

Usages et expositions professionnelles du benzylbutyl-phtalate (BBzP)

La production et/ou importation du BBzP est comprise entre 1 000 et 10 000 tonnes par an en Europe et sert notamment à la production d'adhésifs, de produits d'étanchéité et de revêtements³⁰.

Le BBzP est principalement utilisé comme agent de plastification dans la fabrication de colles, vernis, peintures, mastics, encres. En Europe, 90% de l'utilisation concerne la production de PVC et certains polymères (revêtements de sol, emballages alimentaires, peintures plastiques...)³¹.

²⁶ Agence Européenne des Produits Chimiques (ECHA). Site de dissémination des données d'enregistrement, <https://www.echa.europa.eu/web/guest/brief-profile/-/briefprofile/100.001.416>, consulté le 30 mars 2017

²⁷ ANSES. "Connaissances Relatives à la Réglementation, à l'identification, aux propriétés chimiques, à la production et aux usages des composés de la famille des Phtalates (Tome 1)," Mars 2015. <https://www.anses.fr/fr/system/files/SUBCHIM2009sa0331Ra-104.pdf>

²⁸ Commission européenne (CE) Joint Research Centre - Institute for Health and Consumers Protection European Chemicals Bureau (ECB). (2003) European Union Risk Assessment Report: Dibutyl phtalate. Volume 29. (Luxembourg : Office for official publications of the European Communities L - 2985). <https://echa.europa.eu/documents/10162/04f79b21-0b6d-4e67-91b9-0a70d4ea7500>

²⁹ DARES. (2015). Les exposition aux risques professionnels – Les produits chimiques. Enquête SUMER 2010 Direction de l'animation de la recherche, des études et des statistiques, Paris. 273 p. http://dares.travail-emploi.gouv.fr/IMG/pdf/Synthese_Stat_no_13_-_Les_expositions_aux_produits_chimiques.pdf

³⁰ Agence Européenne des Produits Chimiques (ECHA). Site de dissémination des données d'enregistrement, <https://www.echa.europa.eu/fr/web/guest/brief-profile/-/briefprofile/100.001.475>, consulté le 19/12/2016

³¹ European Commission (EC) 2007. European Union Risk assessment report. Benzyl Butyl Phtalate, volume 76. (European Commission, Luxembourg). 274 p. <https://echa.europa.eu/documents/10162/bad5c928-93a5-4592-a4f6-e02c5e89c299>

Les données récentes montrent toutefois que la production de BBzP en Europe est en constante diminution au cours des dernières années. Au total, 39 secteurs d'activités ont été recensés comme étant potentiellement concernés par le DnBP en France³².

Il n'existe pas de données précises en France concernant le nombre de travailleurs exposés au BBzP. L'enquête Surveillance médicale des expositions aux risques professionnels (Sumer) de 2010, rapporte un nombre de salariés exposés aux phtalates en général. Selon les résultats de cette enquête, 58 100 salariés déclarent être exposés aux phtalates soit 0,3% de l'effectif total ayant répondu au questionnaire dont 16 900 salariés déclarant être exposés plus de 20 heures par semaine³³.

Le DnBP et le BBzP sont inscrits à l'annexe XIV du règlement REACH n° 1907/2006/CE et sont donc concernés par la procédure d'autorisation.

Plusieurs demandes d'autorisation ont été déposées par l'industrie pour le DnBP, afin de permettre une utilisation notamment dans la production d'anhydride maléique, dans la fabrication d'agents de propulsion, dans l'électronique (fabrication de condensateurs et de capteurs) et dans la fabrication de peintures à usage militaire. Tout autre usage n'ayant pas fait l'objet d'une demande d'autorisation est interdit en Europe depuis le 21 février 2015 sauf exemptions définies par le règlement REACH. Aucune demande d'autorisation n'a été déposée par l'industrie pour le BBzP, signifiant que tout usage du BBzP est interdit en Europe depuis le 21 février 2015 sauf exemptions définies par le règlement REACH.

La procédure d'autorisation ne couvre pas les articles importés en Europe : plusieurs articles ont été notifiés à l'Agence européenne des produits chimiques (ECHA) comme contenant ces substances.

Ces 2 substances sont également concernées par l'entrée 51 de l'annexe XVII du règlement REACH, visant à restreindre leurs utilisations dans les jouets et articles de puériculture à plus de 0,1 % en masse des matières plastiques composant ces articles. L'Agence européenne des produits chimiques (ECHA) et les autorités danoises ont également proposé une restriction plus large aux articles exposant la population générale à quatre phtalates incluant le DnBP et le BBzP³⁴.

- **pour le 2-éthoxyéthanol (EGEE) et l'acétate de 2-éthoxyéthyle (EGEEA) :**

Usages et expositions professionnelles

L'EGEE est produit ou importé en Europe entre 100 et 1 000 tonnes par an, essentiellement comme produit chimique de laboratoire ou intermédiaire de synthèse³⁵. A ce jour, l'EGEEA est pré-enregistré mais pas enregistré dans le cadre du règlement REACH n°1907/2006/CE.

L'inventaire des agents chimiques cancérigènes, mutagènes et reprotoxiques de 2005 de l'institut national de recherche et de sécurité (INRS) indique une consommation estimée très faible voire nulle pour l'EGEE suite à la mise en œuvre en France d'une politique de substitution très active des éthers de glycol reprotoxiques³⁶.

³² ANSES. "Connaissances Relatives à la Réglementation, à l'identification, aux propriétés chimiques, à la production et aux usages des composés de la famille des phtalates (Tome 1)," Mars 2015. <https://www.anses.fr/fr/system/files/SUBCHIM2009sa0331Ra-104.pdf>.

³³ DARES. (2015). Les expositions aux risques professionnels – Les produits chimiques. Enquête SUMER 2010 Direction de l'animation de la recherche, des études et des statistiques, Paris. 273 p. http://dares.travail-emploi.gouv.fr/IMG/pdf/Synthese_Stat_no_13_-_Les_expositions_aux_produits_chimiques.pdf

³⁴ La procédure d'instruction par les comités d'évaluation de l'ECHA est en cours.

³⁵ <https://echa.europa.eu/fr/brief-profile/-/briefprofile/100.003.459> , Consulté le 30 mars 2017.

³⁶ INRS – Hygiène et sécurité au travail – cahier de notes documentaires – 4^{ème} trimestre 2006-205-p83-96.

Compte tenu de leur classification comme toxique pour la reproduction en catégorie 1B (classification R1B selon la réglementation européenne³⁷), l'EGEE et l'EGEEA ont été identifiées comme substances très préoccupantes et sont inscrites à la liste candidate dans le cadre du règlement REACH.

- **pour le butan-1-ol**

Le butan-1-ol fait l'objet d'une classification harmonisée et est notamment classé comme irritant de catégorie 2 et provoquant des lésions oculaires graves selon la réglementation de l'Union européenne³⁷.

Usages et expositions professionnelles

Le butan-1-ol est produit ou importé en Europe entre 100 000 et 1 000 000 tonnes par an. Cette substance est utilisée pour la fabrication de lubrifiants et graisses, produits de revêtement, produits de nettoyage et de lavage, produits anti-gel, adhésifs et mastics, vernis, cires et peintures au doigt³⁸.

Selon le panorama de l'utilisation des solvants en France fin 2004 de l'INRS³⁹, parmi les nombreux alcools utilisés (représentant en 2004 une consommation globale de 126 600 tonnes), le butan-1-ol représente 19% de la consommation des alcools après l'éthanol (qui représente 50% de la consommation des alcools). Dans le secteur de la formulation de préparations solvantées, le butan-1-ol est ainsi utilisé en 2004 en France pour 61% dans les produits cosmétiques (dont les parfums), 32 % dans les peintures, vernis et encres et 7% dans les produits agrochimiques.

³⁷ règlement (CE) N°1272/2008 du parlement européen et du conseil du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) n° 1907/2006

³⁸ <https://echa.europa.eu/fr/brief-profile/-/briefprofile/100.000.683> Consulté le 30 mars 2017

³⁹ INRS – Hygiène et sécurité au travail – cahier de notes documentaires – 2^{ème} trimestre 2005-199-p65-97.

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

**Evaluation des effets sur la santé et des méthodes de mesure des niveaux
d'exposition sur le lieu de travail
Butylbenzyl-phtalate [N° CAS : 85-68-7]**

**Mission permanente VLEP
Saisine n°2012-SA-0224**

RAPPORT d'expertise collective

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

Mars 2016

Mots clés

VLEP, valeurs limites, fixation, niveaux d'exposition, milieu professionnel, agents chimiques, expertise, effets sur la santé, métrologie, méthodes de mesure, lieux de travail, butylbenzyl-phthalate, phtalate de benzyle et de butyle, BBzP, reprotoxique, tératogène

OEL, limit values, setting, exposure levels, occupational, chemical agents, health effects, metrology, measurement methods, workplaces, butylbenzyl-phthalate, BBzP, reprotoxic, teratogen

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.

GROUPES DE TRAVAIL « EFFETS SANITAIRES » (2010 – 2013)

Président

M. Stéphane BINET – Chef du laboratoire de cancérogenèse et toxicité du développement (Institut National de Recherche et de Sécurité INRS) – Compétences : Toxicologie

Membres

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

Mme Irina CANU – Epidémiologiste à l'INVS. Compétences : épidémiologie.

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

M. Christian LAURENT – Consultant indépendant. Compétences : toxicologie génétique, biosurveillance.

M. Paolo LAURIOLA – Médecin-épidémiologiste ARPA Emilia-Romagna. Compétences : épidémiologie, médecine, toxicologie.

Mme Caroline MAISONNEUVE – Toxicologue – DGA. Compétences : toxicologie, évaluation des risques, élaboration de valeurs de références ; a démissionné le 13/02/2014

Mme Mireille MATRAT – Médecin du travail Université Paris XII. Compétences : médecine du travail, toxicologie, épidémiologie.

M. Fabrizio PARISELLI – Toxicologue CNRS. Compétences : toxicologie.

M. Jean-Paul PAYAN – Chercheur INRS. Compétences : toxicologie, pharmacocinétique.

GROUPE DE TRAVAIL « MÉTROLOGIE » (2010 – 2013)

Président

M. Raymond VINCENT : Chargé de mission à la Direction Déléguée aux Applications (Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS)). Compétences : hygiène industrielle, métrologie des polluants dans l'air des lieux de travail.

Membres

Mme Ingrid ALLIO – Responsable du département air et du laboratoire de microbiologie au sein du laboratoire d'analyses de surveillance et d'expertise de la marine (LASEM) à Brest. Compétences : Analyse, Chimie, Métrologie atmosphérique air des lieux de travail.

M. Olivier BARBE – Responsable adjoint du laboratoire de chimie (CARSAT Normandie). Compétences : chimiste, métrologie des polluants dans l'air des lieux de travail.

M. Eddie FAURE – Responsable technique dans le domaine de la qualité de l'air au Laboratoire Central de la Préfecture de Police (LCPP). Compétences : Analyse, Chimie, Métrologie atmosphérique air des lieux de travail.

M. Roger GROSJEAN – Chef du laboratoire de toxicologie industrielle du Ministère du travail Belge. Compétences : Hygiène industrielle, Chimie, Expologie, Métrologie atmosphérique air des lieux de travail.

M. Pierre Louis LAMBERT – Responsable du laboratoire de chimie (CARSAT Aquitaine). Compétences : chimiste, métrologie des polluants dans l'air des lieux de travail.

M. Benoît OURY – Responsable d'études (laboratoire de chimie analytique organique, INRS). Compétences : chimiste, métrologie des polluants dans l'air des lieux de travail, chimie organique.

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. Michel SLOIM – Ingénieur chimiste (Laboratoire Central de la Préfecture de Police (LCPP)). Compétences : analyse chimique, métrologie des polluants dans l'air des lieux de travail.

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 – Praticien hospitalier (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.

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 : épidémiologie.

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.

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.

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 – Chef de groupe et co-directeur (ad interim) (IST). 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 Cointot¹

Mme Mounia El Yamani²

Mme Fatoumata Sissoko

Contribution scientifique

Mme Amandine Paillat

M. Mohammed Lounis

Mme Fatoumata Sissoko

Mme Mounia El Yamani

M. Christophe Rousselle

Secrétariat administratif

Mme Séverine BOIX - Anses

Mme Sophia Saddoki

¹ Départ de l'Anses en janvier 2015

² Départ de l'Anses en février 2013

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	2
Expertise collective : synthèse de l'argumentaire et conclusions	9
Sigles et abréviations	23
Préambule	25
Partie A – Rapport d'évaluation des effets sur la santé	27
1 Informations générales.....	28
1.1 Identification.....	29
1.2 Propriétés physico-chimiques	29
1.3 Utilisations professionnelles.....	29
2 Résumé de la synthèse du SCOEL.....	30
3 Cinétique et métabolisme	31
3.1 Absorption.....	31
3.1.1 Inhalation.....	31
3.1.2 Ingestion.....	31
3.1.3 Contact cutané.....	31
3.2 Distribution.....	31
3.3 Métabolisation et excrétion	31
4 Toxicité générale.....	35
4.1 Toxicité chez l'Homme.....	35
4.1.1 Toxicité aiguë	35
4.1.2 Irritation – sensibilisation.....	35
4.1.3 Toxicité chronique.....	35
4.1.4 Cancérogénicité	36
4.1.5 Toxicité sur la reproduction.....	36
4.1.5.1 Études chez l'homme adulte : fertilité.....	36
4.1.5.2 Études chez la femme adulte	36
4.1.5.3 Études sur le développement in utero/néonatal	37
4.2 Toxicité chez l'animal	38
4.2.1 Toxicité aiguë	38
4.2.2 Irritation	38
4.2.3 Sensibilisation	38
4.2.4 Toxicité à dose répétées.....	38
4.2.5 Génotoxicité	47
4.2.5.1 Études <i>in vitro</i>	47
4.2.5.2 Études <i>in vivo</i>	47
4.2.6 Cancérogénicité	47
4.2.7 Reprotoxicité	48
4.2.7.1 Effets sur la fonction sexuelle et la fertilité	48
4.2.7.2 Etudes multigénérationnelles	53

4.2.7.3	Effets sur le développement.....	55
4.3	Cohérence animal-Homme	64
5	Construction des VLEP et recommandations.....	65
5.1	Construction de la VLEP-8h	65
5.1.1	Choix de l'effet critique et étude(s) correspondante(s).....	65
5.1.2	Choix des facteurs d'ajustement.....	67
5.1.3	Valeur de la VLEP-8h	68
5.2	Construction de la VLCT-15 min	68
5.3	Mention « peau »	68
6	Conclusions	70
7	Bibliographie.....	71
Partie B – Rapport d'évaluation des méthodes de mesure des niveaux d'exposition sur les lieux de travail		75
1	Présentation et discussion des méthodes de mesure dans l'air des lieux de travail.....	76
1.1	Recensement et classement des méthodes de mesure	76
1.2	Discussion des méthodes de mesure : Evaluation détaillée des méthodes classées en catégorie 3	78
1.2.1	Méthode 1 : prélèvement actif sur une membrane en acétate de cellulose suivie d'un tube de gel de silice – désorption méthanol – analyse par HPLC/UV	78
1.2.2	Méthode 2 : Prélèvement actif sur tube de mousse de polyuréthane + filtre – désorption toluène – analyse par GC/FID	79
2	Conclusions et recommandations	82
3	Bibliographie.....	83
ANNEXES		84
Annexe 1 : partie A – Description d'études réalisées en population générale		85
Annexe 2 : partie B - Support technique : présentation détaillée des méthodes de mesure dans l'air des lieux de travail		87
Annexe 3 : Consultation publique		91
Annexe 4 : Suivi des actualisations du rapport.....		92

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 »

Portant sur l'évaluation des effets sur la santé et des méthodes de mesure des niveaux d'exposition sur le lieu de travail pour le butylbenzyl-phthalate

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 des groupes de travail « effets sanitaires » et « métrologie ».

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 (VLEP) pour le butylbenzyl-phthalate.

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

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

Contexte scientifique

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

- une phase d'expertise scientifique indépendante (seule phase confiée à l'Anses) ;
- 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 est de discuter de l'effectivité des valeurs limites et de déterminer d'éventuels délais d'application, en fonction des 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.

Les VLEP telles que recommandées par le CES « expertise en vue de la fixation de valeurs limites à des agents chimiques en milieu professionnel », sont des niveaux de concentration en polluants dans l'atmosphère des lieux de travail à ne pas dépasser sur une période de référence déterminée et en deçà desquels le risque d'altération de la santé est négligeable. Même si des modifications physiologiques réversibles sont parfois tolérées, aucune atteinte organique ou fonctionnelle de caractère irréversible ou prolongée n'est admise à ce niveau d'exposition pour la grande majorité

des travailleurs. Ces niveaux de concentration sont déterminés en considérant que la population exposée (les travailleurs) est une population qui ne comprend ni enfants ni personnes âgées.

Ces niveaux de concentrations sont déterminés par les experts du CES VLEP à partir des informations disponibles dans des études épidémiologiques, cliniques, de toxicologie animale, etc. L'identification de ces concentrations sécuritaires pour la santé humaine nécessite généralement d'appliquer des facteurs d'ajustement aux valeurs identifiées directement par les études. Ces facteurs permettent de prendre en compte un certain nombre d'éléments d'incertitude inhérents à la démarche d'extrapolation conduite dans le cadre d'une évaluation des effets sanitaires des substances chimiques sur l'Homme.

Trois types de valeurs peuvent être recommandées par le CES :

- valeur limite d'exposition 8 heures (VLEP-8h) : il s'agit de la limite de la moyenne pondérée en fonction du temps de la concentration atmosphérique d'un agent chimique dans la zone de respiration d'un travailleur au cours d'un poste de 8 heures. Dans l'état actuel des connaissances scientifiques (en toxicologie, médecine, épidémiologie, etc.), la VLEP-8h est censée protégée d'effets sur la santé à moyen et long termes, les travailleurs exposés régulièrement et pendant la durée d'une vie de travail à l'agent chimique considéré.
- valeur limite d'exposition à court terme (VLCT) : il s'agit de la limite de la moyenne pondérée en fonction du temps de la concentration atmosphérique d'un agent chimique dans la zone de respiration d'un travailleur sur une période de référence de 15 minutes pendant le pic d'exposition quelle que soit sa durée. Elle vise à protéger les travailleurs des effets néfastes sur la santé (effets toxiques immédiats ou à court terme, tels que des phénomènes d'irritation), dus à des pics d'exposition.
- valeur plafond : il s'agit de la limite de la concentration atmosphérique d'un agent chimique dans la zone de respiration d'un travailleur, qui ne doit être dépassée à aucun moment de la période de travail. Cette valeur est appliquée aux substances reconnues comme irritant fort ou corrosif ou pouvant causer un effet grave potentiellement irréversible, à très court terme.

Ces trois types de valeurs sont exprimés :

- soit en mg.m^{-3} , c'est-à-dire en milligrammes d'agent chimique par mètre cube d'air et en ppm (parties par million), c'est-à-dire en centimètres cube d'agent chimique par mètre cube d'air, pour les gaz et les vapeurs ;
- soit en mg.m^{-3} , uniquement pour les aérosols liquides et solides ;
- soit en f.cm^{-3} , c'est-à-dire en fibres par cm^3 pour les matériaux fibreux.

La valeur de la VLEP-8h peut être dépassée sur de courtes périodes pendant la journée de travail à condition toutefois :

- que la moyenne pondérée des valeurs sur l'ensemble de la journée de travail ne soit pas dépassée ;
- de ne pas dépasser la valeur de la VLCT si elle existe.

En plus des VLEP, le CES évalue la nécessité d'attribuer ou non une mention « peau », lorsqu'une pénétration cutanée significative a été identifiée (Anses, 2014). Cette mention indique la nécessité de prendre en compte la voie d'exposition cutanée dans l'évaluation de l'exposition et, le cas échéant, de mettre en œuvre des mesures de prévention appropriées (telles que le port de gants de protection). En effet, la pénétration cutanée des substances n'est pas prise en compte pour la détermination des niveaux de valeurs limites atmosphériques et peut donc potentiellement entraîner des effets sanitaires indépendamment du respect de ces dernières.

Le CES évalue également la nécessité d'attribuer ou non une mention « ototoxique » signalant un risque d'atteinte auditive en cas de co-exposition au bruit et à la substance en dessous des limites

d'exposition recommandées afin que les préventeurs mettent en place des mesures appropriées (collective, individuelle et médicale) (Anses, 2014).

Le CES évalue également les méthodes de référence applicables pour la mesure des niveaux d'exposition sur le lieu de travail. La qualité de ces méthodes et leur applicabilité à la mesure des expositions aux fins de comparaison à une VLEP ont été évaluées notamment sur leur conformité aux exigences de performance de la NF-EN 482 et de leur niveau de validation.

Organisation de l'expertise

L'Anses a confié au comité d'experts spécialisé (CES) « Expertise en vue de la fixation de valeurs limites à des agents chimiques en milieu professionnel » (CES « VLEP ») l'instruction de cette saisine. L'Agence a également mandaté :

- le groupe de travail « effets sanitaires » pour la réalisation des travaux d'expertise relatifs aux effets sanitaires ;
- le groupe de travail « métrologie » pour l'évaluation des méthodes de mesures atmosphériques dans les lieux de travail.

Plusieurs agents de l'Anses ont contribué à ces travaux et se sont chargés de la coordination scientifique des différents groupes d'experts.

Les travaux d'expertise du groupe de travail ont été soumis régulièrement au CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Le rapport final tient compte de l'ensemble des observations.

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).

Description de la méthode

Pour l'évaluation des effets sur la santé :

Un rapport de synthèse a été élaboré par le GT « effets sanitaires » et soumis au CES VLEP qui l'a commenté et complété.

Les données et informations de ce rapport sont issues principalement du « European Union risk assessment report. Benzyl butyl phthalate » de la Commission Européenne publié en 2007 (EC, 2007) et du rapport d'expertise collective de l'Inserm³ intitulé « Reproduction et Environnement. Expertise collective » publié en 2011 (Inserm, 2011). Elles ont été complétées par une revue de la

³ Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale

littérature sur Medline et Toxline principalement entre décembre 2010 (date de fin de la bibliographie du rapport de l'Inserm) et juillet 2012.

Pour l'évaluation des méthodes de mesure des niveaux d'exposition sur le lieu de travail :

Un rapport de synthèse a été élaboré par le GT « métrologie » et soumis au CES VLEP qui l'a commenté.

Le rapport de synthèse présente les différents protocoles de mesure du butylbenzyl-phtalate dans l'air des lieux de travail recensés et regroupés en fonction des méthodes mises en œuvre. Ces dernières ont ensuite été évaluées et classées au regard des exigences de performances indiquées notamment dans la norme NF EN 482 : « Atmosphère des lieux de travail – Exigences générales concernant les performances des modes opératoires de mesurage des agents chimiques » et des critères de décision détaillés dans le rapport méthodologie (Anses, 2014).

La liste des principales sources consultées est précisée dans le rapport méthodologie (Anses, 2014).

Le classement de ces méthodes est réalisé selon la manière suivante :

- Catégorie 1A : la méthode est reconnue et validée (l'ensemble des critères de performance de la norme NF-EN 482 sont satisfaits) ;
- Catégorie 1B : la méthode est partiellement validée (les critères essentiels de performance de la norme NF EN 482 sont satisfaits) ;
- Catégorie 2 : la méthode est indicative (des critères essentiels de validation ne sont pas suffisamment explicités) ;
- Catégorie 3 : la méthode n'est pas recommandée (des critères essentiels de validation sont absents ou inappropriés).

Une étude comparative et détaillée des méthodes classées en catégorie 1A, 1B et 2 est réalisée au regard des différentes données de validation et de la faisabilité technique, de manière à recommander la ou les méthodes les plus appropriées pour la mesure des concentrations aux fins de comparaison aux VLEP.

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 » (mandat 2014-2017) le 13 mai 2014.

Ce rapport et les conclusions ont fait l'objet d'une consultation publique du 12/03/2015 au 12/05/2015. La liste des personnes ou organismes ayant contribué à la consultation publique sont listés en annexe. Les commentaires reçus ont été examinés par le CES VLEP qui a adopté cette version le 07 mars 2016.

Résultat de l'expertise collective concernant les effets sur la santé

Le butylbenzyl-phtalate (BBzP) est un phtalate utilisé principalement comme plastifiant dans les produits à base de chlorure de polyvinyle (PVC). Il est également utilisé pour la fabrication d'autres polymères retrouvés dans les mastics, les colles, les peintures, les revêtements et les encres.

Cinétique et métabolisme

Aucune donnée concernant la toxicocinétique du BBzP chez l'Homme ou l'animal n'a été recensée dans la littérature après une exposition par inhalation. Pour les autres voies d'exposition (orale ou cutanée), les données humaines sont limitées.

Aucune donnée quantitative sur l'absorption du BBzP par inhalation n'a été identifiée dans la littérature. L'absorption par voie cutanée du BBzP est lente. Une étude chez le rat montre que 30 à 40 % de la quantité appliquée sur la peau est absorbée (flux de perméation (J) : 0,15 à 0,3 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$ d'après EC, 2007).

Les quelques données disponibles sur d'autres phtalates indiquent que la distribution se fait dans l'ensemble des tissus, sans véritable prééminence pour un organe particulier, ni rétention dans un tissu donné. Il n'existe pas d'élément en faveur d'une éventuelle accumulation de la substance ou de ses métabolites (EC, 2007).

Chez l'Homme, il existe une seule étude permettant de caractériser le métabolisme du BBzP. Selon cette étude, le mono-benzyl-phtalate (MBzP) est le principal métabolite du BBzP identifié dans les urines. En effet, 67 et 78% du BBzP ingéré (selon la dose administrée : 253 ou 506 μg respectivement) sont excrétés dans les urines sous forme de MBzP. Le mono-n-butyl-phtalate (MnBP) n'est pas détecté dans les urines pour la dose la plus faible et son excrétion n'atteint que 6% à plus forte dose.

Chez le rat, le BBzP absorbé par voie orale est métabolisé principalement en MnBP et MBzP sous l'action des estérases de la paroi intestinale et du foie. Contrairement à l'Homme, chez le rat, le MnBP est métabolite urinaire majoritaire du BBzP. Les autres métabolites identifiés sont l'acide hippurique, l'alcool benzylique, et le n-butanol.

La demi-vie du BBzP chez l'Homme n'est pas connue mais les données disponibles semblent indiquer qu'elle serait inférieure à 24 heures. L'excrétion urinaire chez l'Homme semble la voie privilégiée (jusqu'à 84% de la dose de BBzP administrée peut être retrouvée dans l'urine sous forme des deux métabolites).

Par ailleurs, chez le rat, la cinétique d'excrétion des métabolites du BBzP après administration orale est dose-dépendantes. En effet, les taux d'excrétion urinaires sont plus faibles lorsque les doses administrées par voie orale sont plus importantes. En outre, une excrétion plus importante de ces deux métabolites est retrouvée chez le rat adulte *versus* le rat immature.

Toxicité générale

Toxicité chez l'Homme

Dans la perspective de construction d'une VLEP pour le BBzP, il est important de souligner le fait que les données disponibles concernant les effets sur l'Homme et plus particulièrement après une exposition par inhalation sont très limitées.

Toxicité aiguë

Aucune donnée relative à la toxicité aiguë du BBzP n'a été identifiée dans la littérature.

Irritation

Une légère irritation a été observée chez 12 % des volontaires ayant accepté de porter un patch cutané contenant 10 % de BBzP (Mallette et Von Haam, 1952 cité par EC, 2007). En revanche, aucun signe d'irritation ou de sensibilisation n'a été retrouvé chez des volontaires suite à l'application cutanée de patch contenant du BBzP (Hammond *et al.*, 1987).

Toxicité chronique

Deux études en milieu professionnel chez des travailleurs exposés par inhalation à des mélanges de plusieurs phtalates ont été rapportées dans la littérature (Milkov *et al.*, 1973 ; Nielsen *et al.*, 1985). Bien que réalisées en milieu professionnel, ces études ne sont pas spécifiques au BBzP (concernent des expositions à des mélanges de phtalates) et ne permettent pas d'identifier une relation dose-réponse reliant une exposition au BBzP et un effet sur la santé.

Toxicité sur la reproduction

Plusieurs études ont cherché à relier une exposition à certains phtalates et des anomalies de l'appareil reproducteur (indicateurs : paramètres spermatiques, puberté précoce, endométriose, hormones etc.) chez l'adulte en population générale. Ces études ne concernent pas spécifiquement le BBzP (coexposition à plusieurs substances) et ne permettent pas d'identifier une relation dose-réponse entre une exposition au BBzP et un effet. De ce fait, aucune de ces études ne peut être utilisée pour la construction de la VLEP du BBzP.

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 le cas spécifique du MBzP, deux études ne mettent pas en évidence d'association entre les concentrations urinaires de MBzP et l'endométriose ou le léiomyome utérin chez des femmes adultes (Itoh *et al.*, 2009 et Weuve *et al.*, 2010).

Plusieurs études ont recherché les effets d'une exposition aux phtalates dont le BBzP sur le développement *in utero*. Les résultats de la publication de Swan *et al.*, 2005 montrent une diminution de la distance anogénitale chez les nouveau-nés de sexe masculin. Cette étude ne peut pas être utilisée pour la construction d'une VLEP en raison de l'absence de mesure de concentrations atmosphériques de BBzP. D'autres études sur des effectifs plus larges sont cependant nécessaires pour confirmer ces premiers résultats (Inserm, 2011).

Effets cancérogènes - génotoxicité

Aucune étude spécifique au BBzP concernant la cancérogénicité chez l'Homme n'a été recensée dans la littérature.

Dans une étude cas-témoin d'Aschengrau *et al.* (1998), aucun lien n'a été mis en évidence entre l'augmentation de l'incidence du cancer du sein et une exposition professionnelle au BBzP (exposition à plusieurs composés oestrogéniques).

Toxicité chez l'animal

Les données issues de l'expérimentation animale sont beaucoup plus nombreuses que celles chez l'Homme. Cependant il est important de noter que la voie d'exposition la plus fréquemment considérée est la voie orale. En raison du nombre important d'études, le lecteur est invité à revenir au rapport d'expertise collective pour leur description détaillée.

Toxicité aiguë

Aucune donnée relative à la toxicité aiguë du BBzP par inhalation n'a été identifiée dans la littérature.

Irritation

Une légère irritation oculaire subsistant 48 heures a été observée lors d'un test de Draize chez le lapin. Les résultats des tests conduits sur la peau du lapin indiquent que le BBzP n'est pas un irritant cutané.

Toxicité subchronique

Trois études de toxicité subchronique par inhalation chez le rat Sprague-Dawley sont décrites dans la revue d'Hammond *et al.*, 1987. Les effets adverses observés dans les études par inhalation étaient essentiellement limités à une chromodacryorrhée (sécrétion de porphyrine reflétant un état de stress chez le rat) ou larmes rouges chez les animaux des deux sexes à des concentrations élevées (sans autres précisions). Dans l'étude la plus pertinente (de 13 semaines), les auteurs ont rapporté une augmentation du poids relatif du foie et des reins (sans aucune modification histopathologique) statistiquement significative à la plus forte concentration (789 mg.m⁻³) chez les rats des deux sexes. Une diminution de la concentration en glucose sérique a également été observée chez les mâles exposés à 789 mg.m⁻³.

Chez le rat, les expositions répétées au BBzP par voie orale conduisent, aux plus faibles doses (120 à 380 mg/kg/j), à une diminution de la prise de poids, une augmentation du poids relatif de certains organes (notamment le foie et les reins) et des lésions pathologiques au niveau du pancréas. Ces lésions touchent aussi bien le pancréas endocrine (avec élargissement, vacuolisation cellulaire, et congestion périphérique des ilots de Langerhans) que le pancréas exocrine (avec présence de noyaux pycnotiques, une atrophie acineuse, et une infiltration cellulaire inflammatoire péri-acineuse). A plus fortes doses, sont observés : des effets hématologiques, une prolifération de peroxyosomes hépatiques, des dégénérescences ou des lésions au niveau du foie (observés chez les rats Wistar et non pas les rats Sprague-Dawley), des reins et des organes reproducteurs chez le mâle ainsi que des effets sur la fertilité. Chez la souris et le chien Beagle, seule une diminution de la progression en poids corporel a été observée dans les études expérimentales.

Toxicité sur la reproduction

Effets sur la fertilité et les organes de la reproduction

Les études chez le rat mâle exposé par voie orale au BBzP montrent des effets toxiques sur la reproduction mâle incluant notamment des lésions des organes reproducteurs, une diminution de la réserve spermatique et une baisse de la fertilité. Ces effets sont généralement observés à des doses supérieures ou égales à 500 mg/kg/j, à l'exception de l'étude de 10 semaines du NTP (1997). En effet, dans cette étude, une diminution de la réserve spermatique épидидymaire est observée dès la dose de 200 mg/kg/j (chez les mâles F0). Elle n'est associée à aucune modification histopathologique et la fertilité n'est pas altérée à ce niveau de dose. En revanche, à la dose supérieure (2200 mg/kg/j) des lésions testiculaires et épидидymaires, une diminution de la réserve spermatique et une atteinte de la fertilité ont été mis en évidence.

Aucune étude mettant en évidence un lien entre une exposition au BBzP de femelles adultes non gestantes et des effets sur le système reproducteur n'a été identifiée.

Effets sur le développement

Plusieurs études montrent que le BBzP et ses deux principaux métabolites (le MnBP et le MBzP) induisent des effets embryotoxiques et tératogènes chez le rat et la souris. L'incidence de ces

effets varie en fonction de la dose et du stade de développement. Les valeurs de NOAEL⁴ recensées pour la toxicité fœtale pour des expositions par voie orale avant le 15^{ème} jour de gestation, chez le rat et chez la souris, varient de 182 à 500 mg/kg/j. La valeur la plus basse est celle déterminée à partir de l'étude de Price (1990 cité dans NTP-CERHR, 2003) sur des souris CD-1.

Les effets les plus sensibles observés sur l'appareil reproducteur mâle en lien avec une activité anti-androgénique du BBzP ont été mis en évidence dans plusieurs études récentes couvrant la période de différenciation sexuelle chez le rat. Dans une étude où la durée d'exposition des femelles gravides s'étend du 6^{ème} au 20^{ème} jour de gestation, une Benchmark Dose (BMD) 1% de 163 mg/kg/j (IC_{95%}⁵ = 95 à 280 mg/kg/j) a été déterminée pour un retard de la migration testiculaire et une BMD 5% de 172 mg/kg/j (IC_{95%} = 126 à 271 mg/kg/j) pour une diminution du poids relatif du testicule. L'étude multigénérationnelle de Tyl *et al.* (2004) conduit au NOAEL le plus bas (50 mg/kg/j) sur la base d'une diminution de la distance anogénitale chez les descendants mâles observée à 250 mg/kg/j. Ainsi, la mesure de la distance anogénitale apparaît à ce jour comme le marqueur le plus sensible. Ce dernier signe également une altération du développement de l'appareil reproducteur mâle *via* l'activité anti-androgénique de cette substance. Cependant, les conditions d'exposition de cette étude ne sont pas pertinentes pour l'élaboration d'une VLEP.

Certaines études ont démontré qu'une exposition *in utero* à de fortes doses d'un phtalate altère les cellules de Leydig de rat. Ainsi, une inhibition de la sécrétion de testostérone et une diminution de l'expression de l'InsL3 (relaxin/insulin like 3) ont été mises en évidence chez des fœtus de rat mâle exposés au BBzP (Wilson *et al.*, 2004 ; Howdeshell *et al.*, 2008). Les conséquences d'une inhibition de la synthèse de testostérone fœtale ont été clairement identifiées. Ainsi différents défauts de masculinisation sont décrits : une diminution de la distance anogénitale, la rétention d'aréoles mammaires ou de mamelons chez le mâle, la diminution de la longueur du pénis, une baisse du poids de la prostate, une augmentation des hypospadias et du taux de cryptorchidie (Inserm, 2011).

L'InsL3 est une hormone qui permet entre autres la croissance du gubernaculum testis, un ligament responsable de la descente des testicules. Il semble donc logique d'attribuer, au moins en partie, la cryptorchidie induite par une exposition *in utero* aux phtalates à l'inhibition de la sécrétion de cette hormone leydigienne.

Effets cancérologènes – génotoxicité

Chez le rat, une étude du NTP (1982) a mis en évidence une augmentation de l'incidence des leucémies de la lignée lymphocytaire chez des rates F344 exposées au BBzP (dose : 720 mg/kg/j). Toutefois, une étude plus récente du NTP (1997) exposant des rats de la même souche pendant 2 ans ne confirme pas ces résultats (pas d'augmentation de l'incidence des leucémies). Cette dernière étude a mis en évidence une augmentation de l'incidence d'adénomes seuls ou combinés à des carcinomes des cellules acineuses et d'hyperplasies acineuses pancréatiques chez les rats mâles exposés à 500 mg/kg/j. Des lésions rénales non doses-dépendantes ont également été observées chez les femelles.

Chez la souris, une étude identique à celle du rat conduite par le NTP n'a révélé aucune augmentation d'incidence de tumeurs chez les animaux exposés au BBzP (doses : 780 et 1560 mg/kg/j) par rapport aux témoins (NTP, 1982 cité par EC, 2007).

Plusieurs phtalates dont le BBzP sont connus pour induire une prolifération des peroxyosomes au niveau hépatique chez le rat et la souris, qui se traduit par des modifications structurales après observation au microscope électronique et des changements dans les activités enzymatiques associées aux peroxyosomes. Il a été suggéré une relation entre la prolifération des peroxyosomes et la survenue de tumeurs hépatiques chez les rongeurs (Laspinkas, 2005).

⁴ Dose maximale sans effet néfaste observé (no observed adverse effect level en anglais)

⁵ Intervalle de confiance à 95%

Toutefois les résultats des études de cancérogenèse chez l'animal ne semblent pas aller dans le sens de ce mécanisme d'action.

Le BBzP n'est pas génotoxique à l'exception d'une faible clastogénicité sur les cellules de moelle osseuse de souris (test *in vivo*). Sur la base des résultats des nombreuses études relatives à la génotoxicité du BBzP, ce dernier n'est pas mutagène. (EC, 2007).

En 1999, le CIRC a conclu que le BBzP ne pouvait être classé comme cancérogène pour l'Homme (groupe 3) en raison de l'absence de donnée chez l'Homme et en raison de preuves limitées chez l'animal (IARC, 1999).

Construction des VLEP

Valeur limite d'exposition professionnelle sur 8h

Choix de l'effet critique

Faute de données disponibles chez l'Homme pouvant être utilisées dans le cadre de la construction d'une VLEP pour le BBzP, les effets toxiques sur l'appareil reproducteur mâle observés chez le rat semblent donc les plus pertinents à considérer.

Les résultats des études expérimentales montrent que les effets les plus sensibles sont observés sur l'appareil reproducteur mâle en lien avec une activité anti-androgénique du BBzP. Plusieurs études indiquent que l'exposition *in utero* correspond à la période la plus sensible pour ces effets. Toutefois les données disponibles, notamment le NOAEL le plus bas identifié dans l'étude multigénérationnelle⁶ de Tyl *et al.* (2000) ne peuvent pas être utilisées pour la construction d'une VLEP.

Choix de l'étude clé et identification de la dose repère

Parmi les études expérimentales chez l'animal sur les effets toxiques sur la reproduction du BBzP, l'étude de 10 semaines du NTP (1997) exposant des rats F344 mâles *via* l'alimentation au BBzP conduisant à un NOAEL⁷ de 200 mg/kg/j est la plus robuste. En effet cette étude a été menée sur une population de rats adultes au sein de laquelle un effet critique transposable au travailleur a été identifié. Il s'agit de l'altération des organes reproducteurs et de la fertilité. Par ailleurs, l'étude est de bonne qualité et la gamme de dose choisie est suffisamment étendue pour que la dose repère trouvée soit cohérente. Par ailleurs le fait que cette dose repère soit un NOAEL plutôt qu'un LOAEL⁸ donne encore plus de validité à l'étude. De plus, l'importante différence entre le NOAEL et le LOAEL est également un élément de sécurité. Enfin, le choix de cet effet et de cette étude est conforté par le fait que les valeurs de la plupart des NOAELs (ou BMD) déterminés par voie orale chez le rongeur se situent autour de 200 mg/kg/j, et ce aussi bien pour la toxicité générale (Hammond *et al.*, 1987,) que pour la reprotoxicité (Piersma *et al.*, 2000 ; Price *et al.*, 1990 cité dans CERHR 2003). Par conséquent, cette étude est retenue pour la construction de la VLEP.

Extrapolation voie à voie

Chez les rongeurs, l'absorption gastro-intestinale du BBzP est proche de 100% (Inserm, 2011). En l'absence de donnée, il est considéré par défaut que l'absorption par inhalation chez le rongeur est

⁶ Les conditions d'exposition de cette étude ne sont pas pertinentes pour l'élaboration d'une VLEP

⁷ Dans la mesure où l'effet significatif n'a été observé qu'avec une seule dose, il n'a pas été possible de calculer une BMD

⁸ Dose minimale entraînant un effet néfaste observé (lowest observed adverse effect level en anglais)

de 100%. En l'absence d'autre données, le CES considère par défaut que ces pourcentages d'absorption sont les mêmes chez l'Homme.

Selon ECHA (2012), le volume respiratoire d'un rat pour une exposition de 8h (exprimé par kilogramme de poids corporel) est de $0,38 \text{ m}^3 \cdot \text{kg}^{-1}$. Il correspond au volume respiratoire « standard » de $6,7 \text{ m}^3$ chez un homme de 70 kg. Pour rappel, le volume respiratoire d'un travailleur actif est estimé à 10 m^3 .

On obtient :

$$\text{NOAEL}_{\text{inhalé}} \text{ estimé } (mg \cdot m^{-3}) = \text{NOAEL}_{\text{voie orale rat}} \times \frac{1}{0,38} \times \frac{100}{100} \times \frac{6,7}{10}$$

L'application de ce calcul aux données issues de l'étude du NTP (1997) conduit à un NOAEL équivalent, chez le travailleur par inhalation de $352,6 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$.

Choix des facteurs d'ajustement (FA)

Il est proposé d'appliquer les facteurs d'ajustement suivants :

- variabilité inter-espèces (FA_A) : 3 justifié par l'ajustement allométrique qui permet de s'affranchir de la composante cinétique. L'Inserm sur la base d'une revue complète de la littérature conclut que l'on ne dispose pas de données suffisantes pour affirmer que l'Homme est plus sensible que le rat ou l'inverse.
- variabilité inter-individuelle (FA_H) : 3. En l'absence de données quantifiées sur la variabilité inter-individuelle, la valeur de 3 est attribuée par défaut à ce facteur afin de tenir compte de la variabilité au sein de la population des travailleurs.
- différences de durée d'exposition : transposition d'une exposition subchronique à chronique (FA_S) : 3

Bien que la voie d'exposition ne soit pas la plus adaptée pour la construction de VLEP, l'application d'un facteur d'ajustement pour l'extrapolation voie à voie n'est pas nécessaire. En effet :

- s'agissant d'un effet systémique, les calculs ont été effectués selon un scénario qui considère que l'absorption par voie orale aussi bien que par inhalation est égale à 100% ;
- le NOAEL a été recalculé pour être adapté au volume pulmonaire du rat et sur la durée de travail du travailleur.
- Aucun effet spécifique propre à une voie d'exposition n'a été identifié.

Effet critique	Dose critique	FA	VLEP-8h
Altération des organes reproducteurs et de la fertilité (NTP, 1997)	<p>NOAEL = $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$</p> <p><u>Extrapolation voie à voie :</u></p> <p>NOAEL_{HECinhalé} = $352,6 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$</p>	<p>27</p> <p>FA_A 3</p> <p>FA_H 3</p> <p>FA_S 3</p>	$13 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$

Valeur limite court terme sur 15 minutes

Chez l'Homme, il n'existe pas de donnée sur les effets liés à des expositions aiguës. Chez l'animal, les données d'exposition aiguë disponibles ne sont pas pertinentes pour la construction d'une VLCT-15 min (exposition par voie orale et voie cutanée).

Ainsi afin de limiter l'importance et le nombre de pics d'exposition et conformément à sa méthodologie (Afsset, 2009), le CES recommande de ne pas dépasser sur 15 minutes la valeur de 5 fois la VLEP-8h lors de toute exposition professionnelle au BBzP soit 65 mg.m^{-3} .

Mention peau

Aucune donnée quantitative de pénétration cutanée du BBzP chez l'homme n'a été retrouvée dans la littérature.

A défaut de données chez l'homme, des données expérimentales ont été considérées.

A partir des données de l'étude *in vivo* chez le rat d'Elsisi *et al.* (1989) en première approximation, un flux de perméation cutanée (J) peut être estimé à partir des éléments suivants :

- une dose déposée de $5 \text{ à } 8 \text{ mg.cm}^{-2}$ (la dose n'est pas strictement connue) ;
- un pourcentage de la dose excrétée en 7 jours de 30 % (chiffre dans le texte et valeur de la figure 1 dans la publication d'Elsisi *et al.* 1989) ;
- un pourcentage de la dose dans les muscles et graisses de 4,6% et de 0,17% (tableau 1 dans la publication d'Elsisi *et al.* 1989).

Le flux (J) estimé à partir de ces données correspond à :

- $J = 5 \text{ à } 8 \text{ mg.cm}^{-2} \times (30\% + 4,6\% + 0,17\%) / (100 \times 7 \text{ j} \times 24 \text{ h} \times 60 \text{ min})$
- $J = 0,2 \text{ à } 0,3 \text{ } \mu\text{g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$ soit $12 \text{ à } 18 \text{ } \mu\text{g.cm}^{-2}.\text{h}^{-1}$

Le flux ainsi calculé correspond aux valeurs de $0,15 \text{ à } 0,30 \text{ } \mu\text{g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$ rapportées par la Commission européenne (EC, 2007).

La quantité absorbée, pour une exposition à une concentration équivalente à la VLEP-8h sur une période de travail de 8h, en considérant une absorption par inhalation de 100% (comme utilisée pour l'extrapolation voie à voie) et un volume d'air inspiré de 10 m^3 correspond à :

- $13 \text{ (mg.m}^{-3}) \times 10 \text{ (m}^3) = 130 \text{ mg}$

La quantité absorbée après exposition des mains et des avant-bras (2000 cm^2) pendant 1 heure correspond à :

- $18 \times 10^{-3} \text{ (mg.cm}^{-2}.\text{h}^{-1}) \times 2000 \text{ (cm}^2) = 36 \text{ mg}$

Conformément au document méthodologique du CES, les critères de l'ECETOC⁹ sont appliqués pour déterminer un apport relatif par la voie cutanée par rapport à l'inhalation.

La quantité de composé absorbé après exposition des mains et des avant-bras (2000 cm^2) pendant 1h doit contribuer à plus de 10 % de la dose systémique absorbée par inhalation sur 1 journée de travail de 8h à la VLEP-8h (ECETOC, 1993).

La dose absorbée par la voie cutanée correspondrait ainsi à 28% de la dose absorbée par inhalation.

⁹ European Center for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals

Il faut cependant noter une limite à ce résultat. En effet, ce pourcentage d'absorption a été extrapolé à partir des données expérimentales chez l'animal. Or il est connu que la pénétration cutanée des phtalates est espèce-dépendante car influencée par l'activité esterasique potentiellement différente entre l'animal et l'Homme (Payan et al., 2001 ; Hopf et al., 2014).

Pour d'autres phtalates, comme le di-butyl-phtalate (DBP) notamment, le flux d'absorption cutanée calculé à partir de données *in vitro* chez l'animal peut être très largement supérieur à celui calculé chez l'Homme ; de 40 fois supérieur (Beydon et al., 2010; Scott et al., 1989).

Pour le di-éthylhexylphtalate (DEHP), en revanche, il a été calculé que le flux d'absorption cutanée obtenu à partir de donnée *in vitro* chez l'animal était seulement 4 fois supérieur à celui calculé chez l'Homme (Barber et al., 1992; Scott et al., 1989).

Au vu des extrapolations réalisées à partir de résultats obtenus pour d'autres phtalates, le passage cutané pourrait être plus faible chez l'Homme que l'étude d'Elsisi le suggère. Il est cependant possible que la voie cutanée puisse contribuer à plus de 10% de la charge systémique. Par conséquent, le CES VLEP recommande l'attribution de la mention peau pour cette substance.

Résultat de l'expertise collective concernant les méthodes de mesure atmosphériques dans les lieux de travail

Le tableau suivant présente les deux méthodes de mesure recensées et évaluées.

Tableau 1 : Tableau récapitulatif des méthodes de mesurage du BBzP dans l'air des lieux de travail

N°	Méthode	Protocoles similaires
1	Prélèvement sur filtre en acétate de cellulose et tube de gel de silice - Désorption dans le méthanol - Analyse par chromatographie en phase liquide HPLC (détecteur ultra-violet UV)	DFG méthode 2 :2006 et IFA : méthode 8387 : 2009
2	Prélèvement sur tube de mousse polyuréthane et filtre en fibres de quartz - Désorption dans du toluène - Analyse par chromatographie en phase gazeuse GC (détecteur par ionisation de flamme FID ou capture d'électron ECD)	MétroPol : fiche 96 : 2006 ¹⁰

Les deux graphiques ci-dessous présentent le domaine pour lesquelles les différentes méthodes ont été testées, ainsi que leur limite de quantification au regard de la VLEP-8h et de la VLCT-15 min pragmatique recommandées par le CES VLEP.

¹⁰ Cette référence a été modifiée par l'INRS lors de la mise à jour de sa base de données MétroPol en novembre 2015 (postérieurement à l'évaluation réalisée dans le cadre de cette expertise) : <http://www.inrs.fr/publications/bdd/metropol.html>

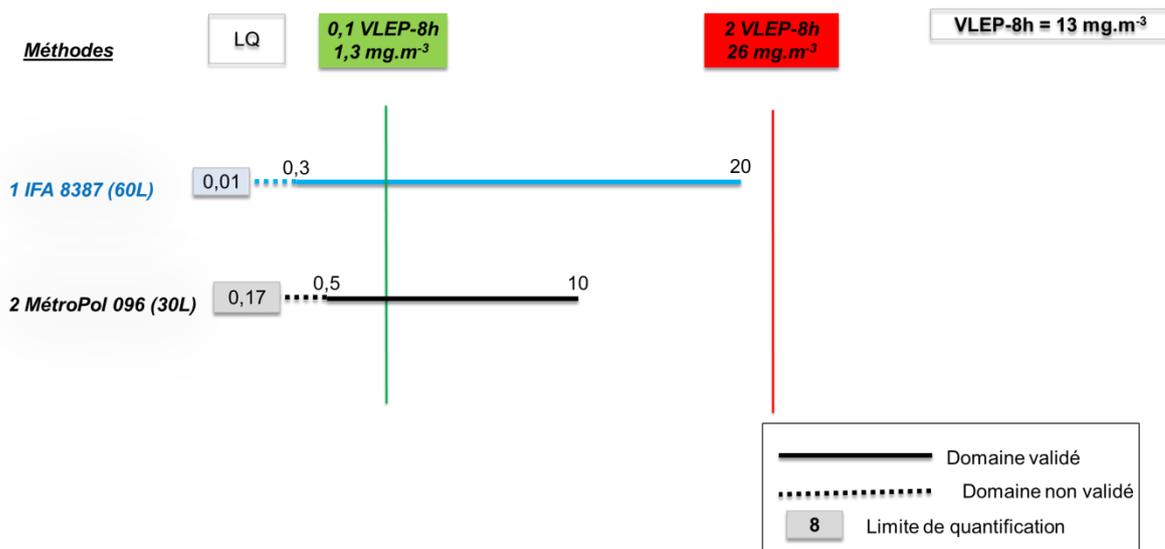


Figure 1 : Domaine de validité et limite de quantification des différentes méthodes comparés au domaine 0,1 à 2 VLEP-8h recommandée par le CES VLEP pour le BBzP

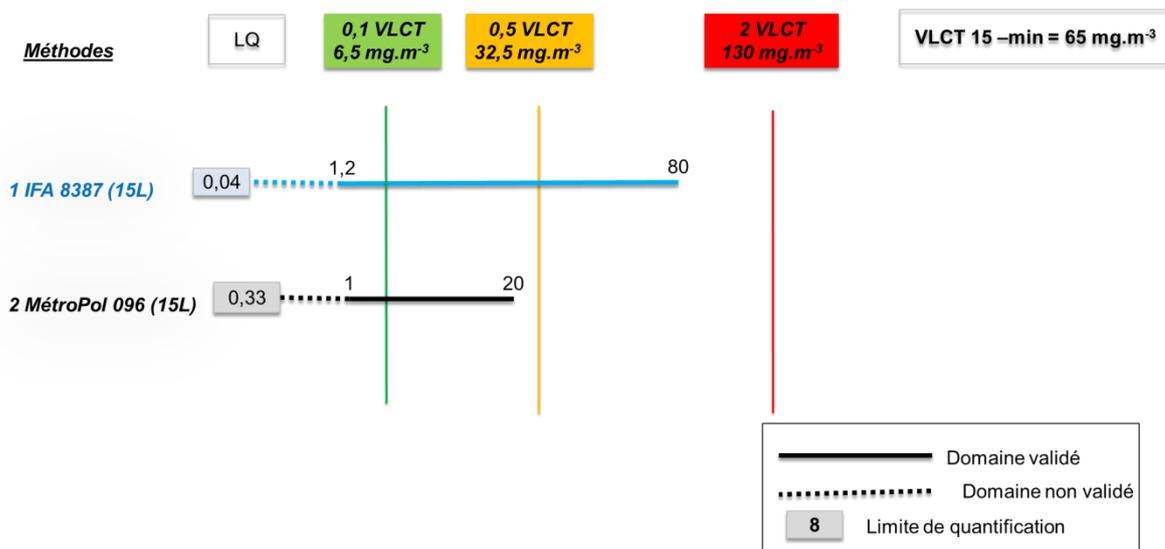


Figure 2 : Domaine de validité et limite de quantification des différentes méthodes comparés au domaine 0,1 à 2 VLCT-15min pragmatique recommandée par le CES VLEP pour le BBzP

Conclusion et recommandations

La méthode 1 décrite par le protocole DFG¹¹ (ou IFA 8387) consiste à effectuer un prélèvement sur un ensemble constitué d'un filtre en acétate de cellulose et d'un tube de gel de silice puis à l'analyse par chromatographie en phase liquide avec détecteur ultra-violet après désorption des supports dans le méthanol.

L'ensemble du dispositif de prélèvement décrit dans le protocole DFG peut permettre, en mettant en œuvre une cassette fermée de 37 mm, en amont du tube de gel de silice, et au débit recommandé de 1 L.min⁻¹, de s'assurer de la collecte de la fraction inhalable de l'aérosol, selon la norme EN 481 et par conséquent de prélever la phase mixte (aérosol + gaz) du composé.

¹¹ Deutsche Forschungsgemeinschaft

Ces méthodes sont classées en catégorie 3, du fait de l'insuffisance ou du caractère incomplet des données publiées, notamment sur la capacité de piégeage du support, rendant impossible de s'assurer qu'elles respectent l'ensemble des exigences de la norme NF EN 482.

Cependant si l'on considère la très faible volatilité du BBzP (0,0012 Pa à 20°C) et une mise en œuvre ne nécessitant pas le recours à des procédés dispersifs (pulvérisation haute pression par exemple), ce qui est généralement le cas, il est improbable, voire impossible que des niveaux de concentration correspondant à 2 fois les VLEP recommandées (26 et 130 mg.m⁻³) puissent être atteints. Sur la base de ces hypothèses les méthodes proposées pourraient être mises en œuvre pour contrôler l'exposition professionnelle au BBzP sous réserve d'une validation complète (notamment prélèvement de longue durée pour le contrôle de la VLEP-8h et détermination des incertitudes de mesure).

Conclusions de l'expertise collective

Sur la base des données actuellement disponibles, le CES recommande de fixer une VLEP-8h de 13 mg.m⁻³. Cette recommandation vise à protéger des effets sur l'appareil reproducteur mâle en lien avec une activité anti-androgénique du BBzP (altération des organes reproducteurs et de la fertilité notamment) et du MBzP (métabolite principal chez l'homme). Par ailleurs, cette valeur est également protectrice pour l'ensemble des autres effets sur la population générale des travailleurs.

Les données actuellement disponibles ne permettent pas la recommandation d'une VLCT-15 min pour le BBzP. Aussi conformément à sa méthodologie, le CES recommande de ne pas dépasser 5 fois la valeur de la VLEP-8h (soit 65 mg.m⁻³) pendant 15 minutes.

Le CES recommande l'attribution d'une mention « peau ».

Au regard de l'évaluation des méthodes de mesure du BBzP dans l'air des lieux de travail, le CES ne recommande pas de méthode de mesure. En effet, les deux méthodes de mesure recensées, bien que permettant d'atteindre le dixième de la VLEP-8h ou de la VLCT-15min, n'ont pas été validées jusqu'à 2 fois ces valeurs limites. Le CES recommande de valider les deux méthodes recensées sur des domaines de concentration plus élevés qu'actuellement, et pour des durées de prélèvement d'au moins 4h.

Cependant si l'on considère la très faible volatilité du BBzP (0,0012 Pa à 20°C) et une mise en œuvre ne nécessitant pas le recours à des procédés dispersifs (pulvérisation haute pression par exemple), ce qui est généralement le cas, il est improbable, voire impossible que des niveaux de concentration correspondant à 2 fois les VLEP recommandées (26 et 130 mg.m⁻³) puissent être atteints.

Sur la base de ces hypothèses les méthodes proposées pourraient être mises en œuvre pour contrôler l'exposition professionnelle au BBzP sous réserve d'une validation complète.

Sigles et abréviations

BBzP : butylbenzyl-phtalate
BMD : Benchmark dose
CES : Comité d'Experts Spécialisés
COCT : Conseil d'Orientation sur les Conditions de Travail (COCT)
DAG : distance anogénitale
DBP : di-butyl-phtalate
DEHP : di-éthylhexyl-phtalate
DEP : di-éthyl-phtalate
DiDP : di-iso-décyl-phtalate
DiOP : di-iso-octyl-phtalate
DL₅₀ : dose létale 50
DnBP : di-n-butyl-phtalate
DOP : dioctyl-phtalate
EC : Commission européenne (European Commission en anglais)
ECD : détection par capture d'électron
ECETOC : European Center for Ecotoxicology and Toxicology for Chemicals
FID : détection par ionisation de flamme
FSH : hormone folliculostimulante (follicule stimulating hormone en anglais)
FT4 : thyroxine libre
GC : chromatographie en phase gazeuse (gas chromatography en anglais)
HPLC : chromatographie liquide haute performance (high pressure liquid chromatography en anglais)
IC95% : intervalle de confiance à 95%
IDA : indice anogénital
INRS : Institut National de Recherche et de Sécurité
InsL3 : relaxin/insulin like 3
Inserm : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
I.v. : voie intraveineuse
LAH-11 et LAH-12 : enzymes 11-, 12-acide laurique hydroxylase
LC : chromatographie liquide
LH : hormone lutéinisante
LOAEL : dose minimale entraînant un effet néfaste observé (lowest observed adverse effect level en anglais)
LQ : limite de quantification
MCHP : mono-cyclohexyl-phtalate
MBzP : mono-benzyl-phtalate
MEHP : mono-2-éthylhexyl-phtalate
MEP : mon-oéthyl-phtalate
MiBP : mono-isobutyl-phtalate
MiNP : mono-iso-nonyl-phtalate
MMP : mono-méthyl-phtalate
MnBP : mono-n-butyl-phtalate
MOP : mono-octyl-phtalate
MP : monophtalates
MS : détection par spectrométrie de masse
NOAEL : dose maximale sans effet néfaste observé (no observed adverse effect level en anglais)
OMS : Organisation Mondiale de la Santé (ou World Health Organisation, WHO en anglais)
Pa : Pascal (unité)
PC : poids corporel
PVC : polychlorure de vinyle
T3 : triiodothyronine
T4 : thyroxine
TSH : thyroid stimulating hormone ou thyroestimuline

UV : detection par ultraviolet

V.o. : voie orale

ppm : parties par millions

PST : Plan Santé au Travail

SCOEL : Scientific Committee for Occupational Exposure Limits (ou CSLEP en français)

SHBG : sex-hormone-binding globulin

US-EPA : United-States Environmental Protection Agency

VLCT : valeur limite court terme

VLEP : valeur limite d'Exposition professionnelle

VME : valeur moyenne d'exposition

Préambule

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

- une phase d'expertise scientifique indépendante (seule phase confiée à l'Anses) ;
- 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 est de discuter de l'effectivité des valeurs limites et de déterminer d'éventuels délais d'application, en fonction des problèmes de faisabilité technico-économique.

Les VLEP telles que recommandées par le CES « expertise en vue de la fixation de valeurs limites à des agents chimiques en milieu professionnel », sont des niveaux de concentration en polluants dans l'atmosphère des lieux de travail à ne pas dépasser sur une période de référence déterminée et en deçà desquels le risque d'altération de la santé est négligeable. Même si des modifications physiologiques réversibles sont parfois tolérées, aucune atteinte organique ou fonctionnelle de caractère irréversible ou prolongée n'est admise à ce niveau d'exposition pour la grande majorité des travailleurs. Ces niveaux de concentration sont déterminés en considérant que la population exposée (les travailleurs) est une population qui ne comprend ni enfants ni personnes âgées.

Ces niveaux de concentrations sont déterminés par les experts du CES VLEP à partir des informations disponibles dans des études épidémiologiques, cliniques, de toxicologie animale, etc. L'identification de ces concentrations sécuritaires pour la santé humaine nécessite généralement d'appliquer des facteurs d'ajustement aux valeurs identifiées directement par les études. Ces facteurs permettent de prendre en compte un certain nombre d'éléments d'incertitude inhérents à la démarche d'extrapolation conduite dans le cadre d'une évaluation des effets sanitaires des substances chimiques sur l'Homme.

Trois types de valeurs peuvent être recommandées par le CES :

- une valeur limite d'exposition 8 heures (VLEP-8h) : il s'agit de la limite de la moyenne pondérée en fonction du temps de la concentration atmosphérique d'un agent chimique dans la zone de respiration d'un travailleur au cours d'un poste de 8 heures. Dans l'état actuel des connaissances scientifiques (en toxicologie, médecine, épidémiologie, etc.), la VLEP-8h est censée protégée d'effets sur la santé à moyen et long termes, les travailleurs exposés régulièrement et pendant la durée d'une vie de travail à l'agent chimique considéré.
- une valeur limite d'exposition à court terme (VLCT) : il s'agit de la limite de la moyenne pondérée en fonction du temps de la concentration atmosphérique d'un agent chimique dans la zone de respiration d'un travailleur sur une période de référence de 15 minutes pendant le pic d'exposition quelle que soit sa durée. Elle vise à protéger les travailleurs des effets néfastes sur la santé (effets toxiques immédiats ou à court terme, tels que des phénomènes d'irritation), dus à des pics d'exposition.
- une valeur plafond : il s'agit de la limite de la concentration atmosphérique d'un agent chimique dans la zone de respiration d'un travailleur, qui ne doit être dépassée à aucun moment de la période de travail. Cette valeur est appliquée aux substances reconnues comme irritant fort ou corrosif ou pouvant causer un effet grave potentiellement irréversible, à très court terme.

Ces trois types de valeurs sont exprimés :

- soit en mg.m^{-3} , c'est-à-dire en milligrammes d'agent chimique par mètre cube d'air et en ppm (parties par million), c'est-à-dire en centimètres cube d'agent chimique par mètre cube d'air, pour les gaz et les vapeurs ;

- soit en mg.m^{-3} , uniquement pour les aérosols liquides et solides ;
- soit en f.cm^{-3} , c'est-à-dire en fibres par cm^3 pour les matériaux fibreux.

La valeur de la VLEP-8h peut être dépassée sur de courtes périodes pendant la journée de travail à condition toutefois :

- que la moyenne pondérée des valeurs sur l'ensemble de la journée de travail ne soit pas dépassée ;
- de ne pas dépasser la valeur de la VLCT si elle existe.

En plus des VLEP, le CES évalue la nécessité d'attribuer ou non une mention « peau », lorsqu'une pénétration cutanée significative a été identifiée (Anses, 2014). Cette mention indique la nécessité de prendre en compte la voie d'exposition cutanée dans l'évaluation de l'exposition et, le cas échéant, de mettre en œuvre des mesures de prévention appropriées (telles que le port de gants de protection). En effet, la pénétration cutanée des substances n'est pas prise en compte pour la détermination des niveaux de valeurs limites atmosphériques et peut donc potentiellement entraîner des effets sanitaires indépendamment du respect de ces dernières.

Le CES évalue également la nécessité d'attribuer ou non une mention « ototoxique » signalant un risque d'atteinte auditive en cas de co-exposition au bruit et à la substance en dessous des limites d'exposition recommandées afin que les préventeurs mettent en place des mesures appropriées (collective, individuelle et médicale) (Anses, 2014).

Le CES évalue également les méthodes de référence applicables pour la mesure des niveaux d'exposition sur le lieu de travail. La qualité de ces méthodes et leur applicabilité à la mesure des expositions aux fins de comparaison à une VLEP ont été évaluées notamment sur leur conformité aux exigences de performance de la NF-EN 482 et de leur niveau de validation. Suite à cette évaluation, les méthodes peuvent être classées en différentes catégories :

- catégorie 1A : méthode permettant la mesure d'une VLEP contraignante ; la méthode est reconnue et validée (l'ensemble des critères de performance de la NF-EN 482 sont satisfaits) ;
- catégorie 1B : méthode permettant la mesure d'une VLEP contraignante sous conditions de préciser quelques points de la méthode (une grande majorité des critères de performance de la NF-EN 482 sont satisfaits) ;
- catégorie 2 : méthode permettant la mesure d'une VLEP indicative ; il manque des données pour que la méthode puisse être validée ;
- catégorie 3 : la méthode n'est pas recommandée et ne doit pas être utilisée à des fins de comparaison aux VLEP.

Partie A – Rapport d'évaluation des effets sur la santé

1 Informations générales

Le butylbenzyl-phthalate (BBzP) est utilisé principalement comme plastifiant¹² dans les produits en polychlorure de vinyle (PVC). Il est également utilisé pour la fabrication d'autres polymères retrouvés dans les mastics, les colles, les peintures, les revêtements et les encres. D'autres produits de consommation tels que les produits d'entretien automobile, les matériaux d'emballage alimentaire et les cosmétiques peuvent contenir du BBzP (EC, 2007).

Les données et informations de ce rapport sont issues principalement des rapports suivants :

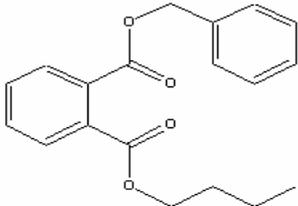
- European Union risk assessment report. Benzyl butyl phthalate (EC, 2007) ;
- Integrated Risk Information System. Butyl Benzyl Phthalate (US-EPA, 2003) ;
- Monograph on the potential human reproductive and developmental effects of butyl benzyl phthalate (BBP) (NTP-CERHR, 2003) ;
- Concise international chemical assessment document 17. Butyl benzyl phthalate. (WHO. 1999) ;
- Reproduction et environnement. Expertise collective (Inserm, 2011).

Ils ont été complétés par une revue de la littérature sur Medline, Toxline principalement entre décembre 2010 (date de fin de la bibliographie de l'Inserm¹³) et juillet 2012.

¹² Le plastifiant est un assouplissant qui est incorporé dans le plastique afin de lui conférer souplesse, extensibilité et élasticité. Le PVC peut contenir jusqu'à 60% d'assouplissant (plasticizer) (EC, 2007)

¹³ Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale

1.1 Identification

Numéro CAS, EINEICS, etc.	N° CAS : 85-68-7 ; N° CE : 607-430-00-3 N° EINECS : 201-622-7
Nom	Phtalate de benzyle et de butyle, Butylbenzyl-phtalate
Synonymes	Benzyl-butyl-phtalate, 1,2-benzenedicarboxylic acid, butyl phenyl methyl ester, benzyl-n-butyl phtalate, phthalic acid, butyl benzyl ester
Formule brute	C ₁₆ H ₂₂ O ₄
Formule développée	

1.2 Propriétés physico-chimiques

Forme physique	Liquide huileux clair ayant une faible odeur et un goût amer (EC, 2007)
Poids moléculaire	312,35 g.mol ⁻¹ (EC, 2007)
Point d'ébullition	370°C (EC, 2007)
Point de fusion	Inférieur à -35 °C (EC, 2007)
Tension de vapeur	1,12.10 ⁻³ Pa à 20 °C (EC, 2007)
Densité	1.114 - 1.122 à 25 °C g.cm ⁻³ (EC, 2007)
Solubilité	2,8 mg/Là 20°C (EC, 2007)
LogKow	4,84 (EC, 2007)
Point d'éclair	198°C (EC, 2007)
Température d'auto-inflammation	425°C (EC, 2007)
Impuretés principales	< 1,0% dibenzyl phtalate (CAS No. 523-31-9) < 0,5% benzyl benzoate (CAS No. 120-51-4) < 0,5% dibutyl phtalate (CAS No. 84-74-2) < 2 ppm α-chlorotoluene (CAS No. 100-44-7) < 2 ppm α-α-dichlorotoluene (CAS No. 98-87-3)

1.3 Utilisations professionnelles

Le butylbenzyl-phtalate est principalement utilisé comme agent de plastification dans la fabrication de colles, vernis, peintures, mastics, encres. En Europe, 90% de l'utilisation concerne la production de PVC et certains polymères (revêtements de sol, emballages alimentaires, peintures plastiques...) (EC, 2007).

Le BBzP a été inclu dans la liste des substances soumises à autorisation dans le cadre du règlement Reach (règlement UE n°143/2011 de la Commission du 17 février 2011, paru au Journal Officiel de l'Union Européenne du 18/02/2011).

2 Résumé de la synthèse du SCOEL¹⁴

Aucun document produit par le SCOEL sur le BBzP n'est disponible lors de la rédaction de ce rapport.

¹⁴ Scientific Committee for Occupational Exposure Limits

3 Cinétique et métabolisme

Aucune donnée concernant la toxicocinétique du BBzP chez l'Homme ou l'animal n'a été recensée dans la littérature après une exposition par inhalation. Pour les autres voies d'exposition (orale ou cutanée), les données humaines sont limitées.

3.1 Absorption

3.1.1 Inhalation

Il n'existe pas de données quantitatives sur l'absorption du BBzP par inhalation. A 20° C, le BBzP est peu volatil.

3.1.2 Ingestion

Plusieurs études chez le rat indiquent que le BBzP est rapidement et largement absorbé par voie orale. Il est largement hydrolysé au niveau intestinal et hépatique en mono-benzyl-phtalate (MBzP) et mono-n-butyl-phtalate (MnBP). Après ingestion, 61 à 71 % de la dose administrée est éliminée en 24 heures dans les urines. Toutefois, l'absorption par l'intestin paraît limitée à forte dose (2 g.kg⁻¹) (Saillenfait et Laudet, 2005).

3.1.3 Contact cutané

L'absorption cutanée a été mesurée chez le rat mâle Fischer exposé au [¹⁴C] BBzP (Elsisi *et al.*, 1989). Une dose de 157 µmol/kg de [¹⁴C] BBzP a été appliquée sur une zone rasée de 1,3 cm de diamètre sur le dos du rat. Ainsi, la dose appliquée correspondante est de 5 à 8 mg.cm⁻². Après une exposition de 7 jours, le [¹⁴C] est dosé. Environ 30 à 40 % de la quantité appliquée est retrouvée dans les urines ou les fèces, 4,6% dans les muscles et 0,5% est retrouvée dans le cerveau, la moelle épinière et les testicules, ce qui représente un flux de 0,15 à 0,3 µg.cm⁻².min⁻¹. (EC, 2007). Cette étude montre que le BBzP est absorbé lentement par la peau, qu'il est rapidement métabolisé et que l'excrétion de la majorité de ces métabolites s'effectue par voie urinaire.

3.2 Distribution

Les études effectuées sur d'autres phtalates tels que le di-éthylhexyl-phtalate (DEHP) sont peu nombreuses et indiquent que la distribution se fait dans l'ensemble des tissus, sans véritable prééminence pour un organe particulier, ni rétention dans un tissu donné (Inserm, 2011). Il n'existe pas d'élément en faveur d'une éventuelle accumulation de la substance ou de ses métabolites (EC, 2007).

3.3 Métabolisation et excrétion

Le BBzP absorbé par voie orale est métabolisé principalement en MBzP et MnBP sous l'action des estérases de la paroi intestinale et du foie. Les autres métabolites identifiés sont l'acide hippurique, l'alcool benzylique et le n-butanol.

Chez l'Homme

La seule étude qui permette de caractériser le métabolisme du BBzP est celle d'Anderson *et al.* (2001). Dans cette étude, 3 groupes de 8 volontaires adultes sains, dont un groupe contrôle, ont ingéré un isotope stable du BBzP (le d4-BBzP ; doses : 0, 253 et 506 µg) en une seule prise, sous forme d'une margarine enrichie. Les quantités de monoesters de phtalates excrétés dans les urines ont été mesurées par chromatographie liquide avec détection par spectrométrie de masse (LC/MS) respectivement 1 jour avant l'administration, puis 1, 2 et 6 jours après. Des niveaux de « bruit de fond » de MnBP et de MBzP ont été détectés dans la plupart des échantillons d'urine prélevés 24 heures avant l'exposition.

La majorité des monoesters de phtalates ont été excrétés dans les premières 24 heures qui ont suivi la prise. L'excrétion urinaire du MBzP était élevée après 24 heures, soit 67% et 78% selon la dose administrée : 253 ou 506 µg respectivement alors que seulement 6% ont été excrétés sous forme de MnBP pour la plus forte dose (506 µg). Le MnBP n'a pas été détecté dans les urines pour la dose faible (253 µg). Au 2^{ème} et 6^{ème} jour après la prise, aucune excrétion de monoesters de phtalates n'a été mesurée. Cette étude indique que l'excrétion urinaire du MBzP reflète l'exposition au BBzP.

Cette étude montre, par ailleurs, qu'après une exposition au ¹³C- di-n-butyl-phtalate (DnBP), les niveaux d'excrétion du MnBP, après 24 heures, étaient de 64 % et 73 % respectivement pour des doses de 255 et 510 µg. Ceci indique que l'excrétion urinaire du MnBP chez l'Homme reflète principalement l'exposition au DnBP.

Chez l'animal

Le métabolisme du BBzP a été étudié chez des rats Wistar femelles (poids : 180 - 200 g) (Nativelle *et al.*, 1999). Quatre doses de BBzP dissous dans l'huile de maïs ont été administrées par gavage : 150, 475, 780 et 1500 mg/kg pc/jour pendant 3 jours consécutifs. Les échantillons d'urine ont été prélevés 24 heures après chaque gavage. Les métabolites retrouvés dans l'urine ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse avec une détection en spectrométrie de masse (GC/MS) après 24, 48 et 72 heures. Dans cette étude, six métabolites du BBzP ont été identifiés (5 métabolites libres et l'acide hippurique, un composé conjugué de l'acide benzoïque et de la glycine). Le BBzP, composé parent, n'a pas été retrouvé dans l'urine. Aux doses administrées, lorsque les données sont exprimées en pourcentage de métabolites totaux retrouvés, le métabolite majeur est l'acide hippurique (51-56%) suivi par les monoesters : le MnBP (29 à 34%) et le MBzP (7 à 12%). Le mono-n-buty-phthalate ω-oxydé, l'acide phtalique étaient également présents (1 ± 2% et 2 ± 3%, respectivement) ainsi que l'acide benzoïque détecté en très petites quantités.

Les métabolites retrouvés dans les urines représentaient respectivement 58%, 54%, 43% et 30% des doses de 150, 475, 780 et 1500 mg/kg de poids corporel (PC)/jour. Après 24 heures, les taux des métabolites récupérés dans les urines étaient similaires chez les rats exposés à 150 et 475 mg/kg PC/jour (sauf pour le MnBP). L'élimination du MnBP, du MBzP et de l'acide hippurique était similaire pour les deux doses les plus élevées.

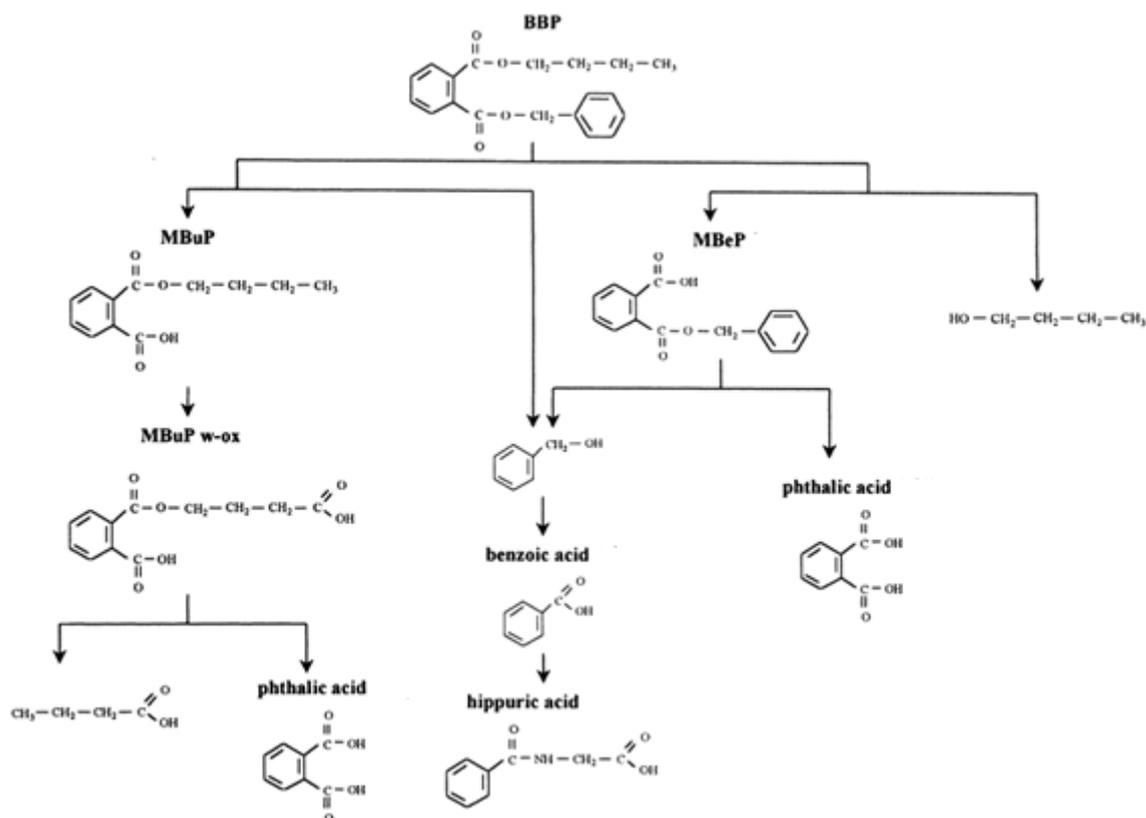


Figure 3 : Métabolisme du BBzP chez les rats femelles Wistar (Nativelle *et al.*, 1999)

MBuP correspond ici à mono-n-butylphthalate

MBeP correspond ici à mono-benzyl-phthalate

Une autre étude a évalué la cinétique d'élimination du BBzP après administration par voie orale (v.o.) ou par voie intraveineuse (i.v.) à des rats mâles Fischer (Eigenberg *et al.*, 1986). Les rats ont été exposés par voie orale à 2, 20, 200 ou 2000 mg/kg, ou à 20 mg/kg par voie iv, de ¹⁴C- BBzP.

Lors de l'exposition de 2 à 200 mg/kg, 61-74% de la dose ont été excrétés dans les urines et 13-19% dans les fèces dans les premières 24 heures. À la dose de 2000 mg/kg, 16% ont été excrétés dans l'urine et 57% dans les fèces. Les composés radioactifs urinaires identifiés sont des dérivés monophtalates (MP) correspondant à 10 à 42 % de la dose et des glucuronides de ces dérivés monophtalates correspondant à 2 à 21 % de la dose.

Lors de l'administration par i.v. de BBzP, 53 à 58 % de la dose ont été excrétés dans la bile des rats après 4 heures. Le composé parent n'a pas été retrouvé dans la bile, contrairement aux MnBP-glucuronide, MBzP-glucuronide (respectivement 26 % et 13 % de la dose) ainsi que des traces de monoesters libres (2 % de la dose) et des métabolites non identifiés (14 % de la dose). Ces résultats montrent que le BBzP est rapidement métabolisé et que la principale voie d'excrétion des métabolites est biliaire. Ces métabolites sont réabsorbés et finalement éliminés dans l'urine.

Le MnBP est formé en plus grande quantité que le MBzP (44 % et 16 % de la dose respectivement pour le MnBP et le MBzP). Les demi-vies du BBzP, des MP, et du ¹⁴C total dans le sang, après injection i.v. de 20 mg/kg, étaient de 10 min, 5,9 heures et 6,3 heures respectivement.

La demi-vie du BBzP chez l'Homme n'est pas connue mais les données disponibles semblent indiquer qu'elle serait inférieure à 24 heures (EC, 2007). Chez le rat, la cinétique d'excrétion des métabolites du BBzP après administration orale est dose-dépendante. Entre 70 % et 80 % de la dose ingérée (radio marquée) ont été retrouvés dans les urines lors d'expositions allant de 2 à 200 mg/kg, alors qu'environ 22 % ont été excrétés dans l'urine après l'administration de 2 000 mg/kg. L'excrétion dans les fèces était de 20 % après une administration intraveineuse, ce qui indique que

l'absorption, pour des doses allant de 2 à 200 mg/kg est presque complète. (EC, 2007). Le ratio MnBP/MBzP retrouvé dans les urines de rats est de 3/1. Un taux d'écrétion plus important de ces deux métabolites est retrouvé chez le rat adulte *versus* le rat immature.

En conclusion, chez l'Homme, et contrairement aux rongeurs, le BBzP est majoritairement métabolisé en MBzP (>70 %), le MnBP ne représente qu'environ 10 % de la dose administrée. A l'inverse chez le rat, le MnBP est le principal métabolite urinaire (ratio 3/1). Il est important de noter que le MnBP est également un métabolite du DnBP.

Par conséquent, au vu des différences sur le métabolisme du BBzP entre les rongeurs et l'Homme, il conviendrait d'être prudent lors d'une extrapolation animal-homme pour l'élaboration d'une VLEP.

4 Toxicité générale

4.1 Toxicité chez l'Homme

Dans la perspective de construction d'une VLEP pour le BBzP, il est important de souligner le fait que les données disponibles concernant les effets sur l'Homme et plus particulièrement après une exposition par inhalation sont très limitées.

Plusieurs études réalisées en population générale ont été retrouvées dans la littérature. Elles sont décrites pour information dans l'Annexe .

4.1.1 Toxicité aiguë

Aucune étude de toxicité aiguë chez l'Homme n'a été identifiée dans la littérature.

4.1.2 Irritation – sensibilisation

Une étude rapporte les effets de l'application cutanée de patchs contenant du BBzP non dilué sur 200 volontaires pendant 24 heures, 3 fois par semaine pendant 5 semaines (Hammond *et al.*, 1987). Après deux semaines sans exposition, une deuxième application cutanée a été faite sur des sites cutanés vierges des mêmes volontaires pendant 24h. Aucun signe d'irritation ou de sensibilisation au BBzP n'a été retrouvé.

Par contre, une étude ancienne (Mallette et Von Haam, 1952 cité par EC, 2007) a conclu à l'apparition de signes d'une légère irritation chez 12 % des volontaires ayant accepté de porter un patch cutané contenant 10 % de BBzP (15-30 personnes). En revanche aucun signe de sensibilisation n'a été retrouvé.

4.1.3 Toxicité chronique

En milieu professionnel, les travailleurs sont le plus souvent exposés par inhalation à des mélanges de plusieurs phtalates et plus particulièrement aux DEHP, di-iso-décyl-phtalate (DiDP) et BBzP. Deux études ont été recensées dans le rapport de la Commission européenne (EC, 2007).

Dans la première étude (Milkov *et al.*, 1973), les travailleurs d'une installation de production de cuir artificiel et de films à base de résines PVC ont été exposés au DnBP et à plusieurs autres alkyls phtalates le DAP-789, le dioctyl-phtalate (DOP), le di-iso-octyl-phtalate (DiOP), le BBzP ainsi qu'à de faibles concentrations en adipates et sébaçate. L'étude comprenait 147 travailleurs (âgés de moins de 40 ans pour la plupart) et la durée de l'exposition professionnelle variait de 0,5 à 5 ans pour 54 travailleurs, de 6 à 10 ans pour 28 travailleurs et de plus de 10 ans pour 65 travailleurs. Les niveaux ambiants de vapeurs ou d'aérosols de plastifiants (esters mixtes) dans la zone de travail variaient de 1,7 à 66 mg/m³. Les travailleurs souffraient d'une polynévrite modérée dont la fréquence et la gravité semblait augmenter avec la durée d'exposition. L'étude montre aussi une baisse de l'excitabilité des récepteurs vestibulaires et olfactifs et de la sensibilité cutanée. Cependant, cette étude ne peut pas être utilisée dans le cadre de la construction de VLEP en raison d'une exposition des travailleurs à un mélange de phtalates dont le principal composant n'est pas le BBzP mais le DnBP et d'une caractérisation de l'exposition globale plutôt que spécifique à la substance étudiée.

La deuxième étude (Nielsen *et al.*, 1985) concerne un groupe de 54 travailleurs de l'industrie de transformation du chlorure de polyvinyle exposés par inhalation à un mélange de phtalates (principalement le DEHP, le BBzP et le DiDP). Le BBzP était présent à moins de 10% dans le mélange. L'âge moyen des travailleurs était de 38 ans (varie de 21 à 64) et la durée moyenne d'exposition de 8 ans (varie de 1 à 21 ans). Le niveau d'exposition au mélange de phtalates variait de 0,02 à 2 mg/m³. Les niveaux de métabolites urinaires des esters d'acides phtaliques étaient significativement plus élevés chez les exposés que chez les non-exposés (23-25, versus 18 mmol/L). Les travailleurs ont subi un examen clinique qui n'a montré aucune atteinte du système nerveux périphérique ou du système respiratoire. Cette étude présente un intérêt limité dans le cadre de la construction d'une VLEP puisque toutes les mesures ont concerné l'ensemble des phtalates totaux et le BBzP n'était présent qu'à 10% dans le mélange.

Ces études réalisées en milieu professionnel ne sont pas spécifiques au BBzP (coexposition à plusieurs substances) et ne permettent pas l'identification d'une relation dose/réponse reliant une exposition au BBzP et un effet.

4.1.4 Cancérogénicité

Aucune étude spécifique au BBzP concernant la cancérogénicité chez l'Homme n'a été recensée dans la littérature.

Aschengrau *et al.* (1998) ont réalisé une étude cas-témoins auprès de 261 cas de cancer du sein et 753 témoins à Cape Cod dans le Massachusetts. Cette étude visait à examiner l'association entre l'exposition professionnelle à des composés œstrogéniques dont le BBzP et la survenue du cancer du sein. Aucun lien n'a été mis en évidence entre une augmentation de l'incidence du cancer du sein et l'exposition professionnelle au BBzP.

4.1.5 Toxicité sur la reproduction

4.1.5.1 Études chez l'homme adulte : fertilité

L'équipe de Hauser a publié plusieurs articles sur les paramètres du sperme en lien avec une éventuelle exposition aux phtalates en population générale (Duty *et al.*, 2003a ; Duty *et al.*, 2004 ; Hauser *et al.*, 2006 ; Hauser *et al.*, 2007). Ces études ne sont pas spécifiques au BBzP (coexposition à plusieurs substances) et ne permettent pas l'identification d'une relation dose-réponse reliant une exposition au BBzP à un effet. Elles n'ont pas été jugées utiles pour la construction d'une VLEP et certaines sont décrites pour information dans l'Annexe .

4.1.5.2 Études chez la femme adulte

Deux études chez des femmes adultes ne mettent pas en évidence d'association entre les concentrations urinaires de MBzP et l'endométriose ou le léiomyome utérin (Itoh *et al.*, 2009 et Weuve *et al.*, 2010).

Huang *et al.* (2007) ont étudié l'impact de l'exposition de femmes enceintes (n=76) aux phtalates sur certains indicateurs de la fonction thyroïdienne. Des dosages hormonaux sériques de TSH (thyroïdostimuline ou thyroid stimulating hormone en anglais), triiodothyronine (T3), thyroxine (T4) et thyroxine libre (FT4) ont été effectués au cours du deuxième trimestre de la grossesse. Les taux urinaires médians de MnBP, mono-éthyl-phtalate (MEP), mono-2-ethylhexyl-phtalate (MEHP), mono-méthyl-phtalate (MMP) et MBzP étaient respectivement de 81,8 ; 27,7 ; 20,6 ; 4,3 et 0,9 ng/ml. Dans la mesure où les concentrations urinaires en MnBP, MEP et MEHP étaient les plus élevées, les auteurs indiquent que les sujets sont principalement exposés au DnBP, di-éthyl-phtalate (DEP) et DEHP. Des corrélations négatives significatives ont été retrouvées entre les taux

de T4 sérique et de MnBP urinaire ($R = -0,248$; $p < 0,05$) et entre ceux de FT4 sérique et de MnBP urinaire ($R = -0,368$, $P < 0,05$). Après ajustement sur l'âge, l'indice de masse corporelle et la parité, des associations négatives apparaissent entre les niveaux de MnBP urinaires et les taux de FT4 ($\beta = -0,110$; $p < 0,001$), et de T4 ($\beta = -0,112$; $p = 0,003$). Les auteurs concluent que l'exposition à certains phtalates est susceptible d'altérer la fonction thyroïdienne lors de grossesse. Plusieurs limites de cette étude sont aussi rapportées : taille de l'échantillon faible ($n=76$), prélèvement d'un échantillon unique de sang et d'urine, contamination des échantillons d'urine par les récipients en plastique utilisés pour les prélèvements.

4.1.5.3 Études sur le développement in utero/néonatal

Une étude épidémiologique a recherché les liens entre une exposition prénatale aux phtalates et la distance anogénitale chez 134 nouveau-nés de sexe masculin, âgés de 2 à 36 mois lors de la première consultation postnatale (âge moyen : 12,6 mois) (Swan *et al.*, 2005). L'examen comprenait une description des testicules (taille et localisation), du scrotum, de la verge ainsi que des mesures de la distance anogénitale (DAG), et de l'indice anogénital (IDA en mm/kg PC = DAG/PC). Des dosages de neuf métabolites urinaires de phtalates dont le MnBP et le MBzP (métabolites du BBzP) ont été réalisés chez les mères durant la grossesse. Seuls les 85 enfants mâles pour lesquels un examen d'urine de la mère avait été réalisé ont été retenus pour la poursuite de l'étude. Les concentrations de ces métabolites sont distribuées en quartiles. Les résultats montrent que les taux de quatre métabolites que sont le MEP, le MnBP, le MBzP et le mono-isobutyl-phtalate (MiBP) sont inversement corrélés aux IDA. De plus, 20% des enfants présentaient un trouble uni ou bilatéral de la migration testiculaire. Une proportion plus faible (non indiquée) présentait une diminution de la taille de la verge et une hypoplasie scrotale. Les concentrations moyennes des métabolites de phtalates associées à un indice anogénital court et un trouble de la migration testiculaire ont été comparées aux données de l'enquête américaine NHANES. Les résultats sont similaires à ceux trouvés chez 25 % de la population féminine des USA (échantillon national) (Silva *et al.*, 2004). Il en ressort que les niveaux d'exposition habituels aux phtalates des femmes pourraient, lors d'une grossesse, être responsables d'atteintes subtiles des organes reproducteurs chez la progéniture mâle. Sharpe souligne l'importance de cette première étude épidémiologique humaine menée par Swan *et al.*, car elle relance l'importance du rôle que l'exposition aux phtalates pendant la grossesse pourrait jouer dans l'étiologie des désordres reproductifs chez l'Homme (Sharpe, 2005).

Huang *et al.* (2009) ont également étudié le lien entre l'exposition prénatale aux phtalates et les résultats de l'examen du nouveau-né. Pour apprécier l'exposition prénatale, des dosages de MMP, MEP, MnBP, MEHP, MBzP ont été effectués dans les urines et le liquide amniotique (16-20 semaines de grossesse) chez 65 mères présentant une amniocentèse normale. Plusieurs indicateurs du développement du nouveau-né ont été évalués : le poids à la naissance, l'âge gestationnel et la distance anogénitale chez 64 nouveau-nés (31 de sexe féminin et 33 de sexe masculin). Les MnBP et MEHP sont respectivement détectés dans 100 % et plus de 90 % des échantillons de liquide amniotique alors que d'autres métabolites s'y trouvent à l'état de traces. Dans les urines, le taux de détection est de 100 % pour le MnBP, 98 % pour le MEHP, 96 % pour le MEP, 86 % pour le MMP et 63 % pour le MBzP. Ainsi, cette étude confirme l'exposition de la mère et probablement du fœtus durant la grossesse aux phtalates dont le BBzP. Les niveaux médians de métabolites urinaires et amniotiques sont respectivement de 78,4 et 85,2 ng/mL pour le MnBP. L'examen des nouveau-nés met en évidence une distance anogénitale plus courte dans le groupe à haute concentration de MnBP dans le fluide amniotique comparé au groupe à concentration plus basse (groupes identifiés en fonction de la médiane de MnBP) chez les nouveau-nés filles (13,9 versus 17,6 mm, $p=0,024$). L'indice de la distance anogénitale en fonction du poids ou de la taille est également plus court dans le groupe à haute concentration en MnBP chez les nouveau-nés de sexe féminin. A l'inverse, chez les nouveau-nés de sexe masculin cette différence n'est pas observée. Les auteurs suggèrent une plus grande sensibilité des fœtus de sexe féminin à un effet anti-androgène des phtalates pour expliquer cette différence d'effet en

fonction du sexe. Il faut noter malgré les résultats intéressants, l'effectif réduit de cette étude (31 nouveau-nés de sexe féminin et 33 de sexe masculin) et la coexposition à un mélange de phtalates (Inserm, 2011).

Si de nombreuses questions restent posées (par exemple comment expliquer les différences en fonction du sexe dans l'étude de Huang), les résultats de l'étude de Swan, qui présente l'effectif le plus important de nouveau-nés de sexe masculin examinés, suggèrent, de par une diminution de la distance anogénitale, une action des phtalates sur l'androgénisation du fœtus. D'autres études sur des effectifs plus larges sont nécessaires pour confirmer ces premiers résultats (Inserm, 2011).

4.2 Toxicité chez l'animal

Les données issues de l'expérimentation animale sont beaucoup plus nombreuses que celles chez l'Homme. Cependant il est important de noter que la voie d'exposition la plus fréquemment considérée est la voie orale.

4.2.1 Toxicité aiguë

Aucune information sur la toxicité aiguë du BBzP par inhalation n'est actuellement disponible.

La toxicité aiguë du BBzP a été étudiée suite à une exposition par voie orale et par voie cutanée. Les signes de toxicité incluent : perte d'appétit, diminution du poids corporel, baisse d'activité, apathie, leucocytose, collapsus et la mort. Les examens histologiques révèlent des hémorragies pulmonaires, la décoloration du foie, l'inflammation gastro-intestinale aiguë et des lésions dégénératives du système nerveux central. Les valeurs de DL₅₀ par voie orale rapportées s'étendent de 2 330 à 20 400 mg/kg chez le rat et de 4 170 à 6 160 mg/kg chez la souris. Cette gamme étendue pourrait être due à la faible solubilité de la substance. La valeur de DL₅₀ la plus élevée est obtenue lorsque le BBzP est administré non dilué par gavage et la plus faible DL₅₀ est obtenue lorsqu'il est administré dans de l'huile de maïs par gavage (EC, 2007). Une DL₅₀ supérieure à 10000 mg/kg a été déterminée lors de l'application de BBzP non dilué sur la peau de lapins (Hammond *et al.*, 1987).

4.2.2 Irritation

Le potentiel d'irritation cutanée du BBzP a été testé chez le rat et le lapin. Les résultats indiquent que le BBzP n'est pas un irritant cutané chez le lapin. Une légère irritation oculaire subsistant 48 h a été observée chez le lapin, lors de l'instillation de 0,1 ml de BBzP non dilué dans la conjonctive. Aucune irritation n'a été observée lors de l'application de 0,5 ml de BBzP pendant 24 h en continu sur la peau intacte ou abrasée de lapin (Hammond *et al.*, 1987).

4.2.3 Sensibilisation

Les données expérimentales disponibles ne sont pas concluantes en ce qui concerne l'effet sensibilisant du BBzP.

4.2.4 Toxicité à dose répétées

De nombreuses études de toxicité à doses répétées (subchroniques et chroniques) ont été conduites chez l'animal (essentiellement chez le rat). Cependant il est important de noter que la voie d'exposition la plus fréquemment considérée est la voie orale. Dans ce rapport, seules les

études pertinentes ou apportant des éléments d'information importants pour la construction de la VLEP sont décrites de manière détaillée.

Exposition par inhalation

Hammond *et al.* (1987) de la firme Monsanto ont publié une revue des études de toxicité par voie orale et par inhalation, réalisées par cette firme sur des rats Sprague Dawley, des rats Wistar et des chiens Beagle. Les auteurs de cette publication ont également inclus dans cette revue, un résumé des données publiées dans la littérature.

Trois études par inhalation ont été conduites chez des rats Sprague Dawley âgés de 6 à 8 semaines exposés 6h/j, 5 j/semaine pendant 4 semaines pour les études n°1 et n°2 et 13 semaines (soit 90 jours) pour l'étude n°3. Le nombre d'animaux par sexe et par concentration était de 5 dans l'étude 1 (4 semaines), de 20 dans l'étude 2 (4 semaines) et de 25 dans l'étude n°3 (13 semaines). Dans ces 3 études, du BBzP sous forme de vapeur/aérosol a été généré puis introduit dans la chambre d'exposition des animaux. D'après les auteurs, plus de 90% des gouttelettes d'aérosols mesuraient moins de 10 µm de diamètre. Le Tableau 2 récapitule les concentrations et durées d'exposition des animaux dans les 3 études.

Tableau 2 : Concentrations de BBzP dans les études subchroniques par inhalation (d'après Hammond *et al.*, 1987)

	Etude n°1	Etude n°2	Etude n°3
Durée (semaines)	4	4	13
Concentration analytiques de BBzP (en mg/m ³) dans la chambre	49 144 526	360 1000 2100	51 218 789

Dans l'étude n°3, les paramètres cliniques suivants ont été évalués chez 10 animaux/sexe/concentration à 7 et 13 semaines : hématologie (érythrocytes, taux de leucocytes, hémoglobine, hématocrite) ; biochimie sanguine (alcaline phosphatase, bilirubine, urée sanguine, glucose, protéines totales, transaminases) et analyses urinaires (volume, gravité spécifique, pH, bilirubine, hémoglobine, cétone, glucose, protéine). Un nombre réduit de paramètres cliniques a été examiné à la fin de l'étude n°1 et aucun n'a été évalué dans l'étude n°2. A la suite de la nécropsie effectuée sur l'ensemble des animaux des 3 études, le poids de plusieurs organes ont été mesurés (études n°1 et n°3):

- les glandes surrénales, le cerveau, le cœur, les reins, le foie et les testicules dans l'étude n°3
- le cerveau, le cœur, les reins, le foie, les gonades, les poumons et la rate dans l'étude n°1

Des examens histologiques ont été réalisés sur 25 à 32 tissus prélevés sur des animaux exposés à la plus forte concentration ainsi que les contrôles pour les études 1 (de 4 semaines) et 3 (de 13 semaines).

La mort de 3 mâles et de 4 femelles exposés à la plus forte concentration de BBzP soit 2 100 mg/m³ a été observée dans l'étude n°2.

Les effets adverses observés dans les études par inhalation étaient essentiellement limités à une chromodacryorrhée (sécrétion de porphyrine reflétant un état de stress chez le rat) ou larmes rouges chez les animaux des deux sexes à des niveaux d'exposition élevés (sans autres précisions) et de l'alopecie avec une abrasion de la peau chez certains animaux à toutes les concentrations dans l'étude n°2. Les effets sur la peau et les poils semblent provenir du frottement des corps sur les grilles des cages alors que celles-ci sont recouvertes de gouttelettes de BBzP condensées. Des saignements autour du nez ont également été observés chez quelques animaux exposés à la plus haute concentration de l'étude n°2.

Dans la même étude n°2, le gain de poids était réduit de manière significative aux concentrations les plus élevées chez 33% des mâles et 13% des femelles. Dans l'étude n°1, une diminution de 17-19% du gain de poids a également été observée à la plus haute concentration d'exposition (526 mg/m³) chez les animaux des deux sexes. Même si les conditions d'exposition étaient comparables pour les études n°1 et n°3, l'étude de 13 semaines n'a révélé aucun changement de poids des animaux exposés au BBzP.

Les paramètres cliniques (hématologie, biochimie du sang, analyse urinaire) n'ont pas été affectés par l'exposition au BBzP dans les études n°1 et n°3, à l'exception d'une réduction significative du glucose à la plus haute concentration (789 mg/m³) dans l'étude n°3.

Une augmentation limitée (non statistiquement significative) du poids du foie et du rein a été observée chez les groupes exposés à 51 et 218 mg/m³. Elle augmente de façon significative (P<0.05) chez les animaux des deux sexes exposés à 789 mg/m³. Ces effets ne sont apparus que dans l'étude n°3 de 13 semaines. Des effets similaires n'ont pas été observés chez les animaux exposés à des concentrations comparables dans l'étude n°1.

Dans l'étude n°2, une atrophie de la rate et des testicules a été observée chez les animaux exposés à la plus haute concentration (soit 2100 mg/m³). Quelques animaux exposés aux fortes concentrations de BBzP et morts au cours de l'étude présentaient des hémorragies au sein de plusieurs tissus. Dans les deux études où des examens histopathologiques ont été effectués (étude n°1 et n°3), aucun changement microscopique n'a été retrouvé autre que l'hémorragie qui est imputable à l'exposition à la substance (Roloff *et al.*, 1983, étude Monsanto cité par Hammond *et al.*, 1997).

Tableau 3 : Pourcentage de variation (des poids relatifs des organes^A) (d'après Hammond *et al.*, 1997)

Rats Sprague-Dawley	Etude 3 (13 semaines d'exposition)			Etude 1 (4 semaines d'exposition)		
	Concentration (mg/m ³)	Foie	Reins	Concentration (mg/m ³)	Foie	Reins
Mâles	51	7	3	49	-2	3
	218	6	5	144	-4	8
	789	21*	15*	526	-7	4
Femelles	51	4	3	49	-6	NC
	218	5	7	144	-5	18
	789	12*	15*	526	-15	12

A= (poids relatif des organes (traités) – poids relatif des organes (témoins) x 100 / poids relatif des organes (témoins)) ;
* P<0,05

Un NOAEL¹⁵ de 218 mg/m³ et un LOAEL¹⁶ de 789 mg/m³ peuvent être déduits de l'étude 3 sur la base d'une augmentation du poids relatif du foie et des reins dans les deux sexes (sans aucune modification histopathologique) et de la diminution de la concentration en glucose sérique chez les mâles.

Exposition par ingestion

L'étude d'Agarwal *et al.* (1985) montre les effets observés suite à une exposition au BBzP sur les systèmes hématopoïétique et reproducteur chez des rats mâles F344 (10 animaux / groupe), exposés pendant 14 jours *via* l'alimentation à 0 – 0,625 – 1,25 – 2,5 et 5% soit des doses de 0, 447, 890, 1338 et 1542 mg/kg pc/j. Les effets constatés aux doses les plus élevées (1338 et 1542

¹⁵ Dose maximale sans effet néfaste observé (no observed adverse effect level en anglais)

¹⁶ Dose minimale entraînant un effet néfaste observé (lowest observed adverse effect level en anglais)

mg/kg pc/j) sont une baisse du poids corporel certainement attribuable à l'inappétence, une augmentation dose dépendante du poids relatif du foie et des reins, une diminution du poids du thymus et une diminution de la densité cellulaire de la moelle osseuse. Les effets rapportés dans le groupe exposé à la plus forte dose incluaient également une « hépatite multifocale » au niveau du foie et des atteintes morphologiques du thymus (atrophie, lymphocytolyse dans le cortex thymique) (NTP-CERHR, 2003). Les résultats concernant la reproduction sont décrits dans le chapitre dédié (Agarwal, *et al.*, 1985 cité par NTP-CERHR, 2003 et EC, 2007).

Hammond *et al.* (1987) ont décrit une étude de 90 jours (13 semaines) comportant deux essais. Dans le premier, des groupes de 10 rats Sprague Dawley, des 2 sexes (soit n=10/sexe/groupe), ont été exposés *via* l'alimentation au BBzP pendant 3 mois. Dans le second essai, des groupes de rats Wistar des 2 sexes (27 à 45), ont été exposés selon le même protocole. L'exposition a débuté chez des rats âgés de 4 à 6 semaines. La gamme de dose diffère selon la souche : les rats Sprague Dawley ont été exposés à des doses de 188, 375, 750, 1125, et 1500 mg/kg/j, les rats Wistar, l'ont été à 151, 381, et 960 mg/kg/j. Plusieurs paramètres hématologiques (hémoglobine, volume moyen des globules rouges, nombre d'érythrocytes, et nombre total et différentiel de leucocytes), ont été évalués et des analyses urinaires (cétones et protéines urinaires) ont été effectuées sur 5 rats Sprague-Dawley et sur 6 à 27 rats Wistar, de chaque sexe, approximativement tous les mois.

De plus, les paramètres suivants ont été mesurés approximativement tous les mois :

- Paramètres sanguins : hémocrite, nombre de réticulocytes, temps de prothrombine, glucose, urée sanguine, albumine, transaminase glutamique-oxaloacétique sérique, transaminase glutamique-pyruvique sérique et phosphatase alcaline sérique ;
- Paramètres urinaires : densité spécifique, volume cellulaire, pH, glucose, hémoglobine et sels biliaires ;
- Fonction rénale : pour l'évaluer, les volumes urinaires et l'indice de réfraction¹⁷ sont déterminés sur des échantillons prélevés dans les 2 heures qui suivent une absorption orale (dans l'eau) de 25 mg/kg, et lors d'une autre période de 17 à 23 heures qui suit une absorption d'eau identique ;

Tous les animaux inclus dans les deux essais ont subi une nécropsie à la fin de l'exposition de 90 jours. Les poids absolus et relatifs de certains organes ont été déterminés dans les deux souches : cerveau, cœur, foie, reins, et gonades. Ces évaluations ont également concerné la rate des rats Sprague-Dawley, et les glandes surrénales, le cæcum, l'estomac, l'hypophyse et la thyroïde des rats Wistar. Vingt à 40 tissus prélevés sur des rats exposés à la plus forte doses et des témoins, ont été analysés dans les deux essais. Des tissus prélevés chez 3 rats/sexe/dose ont été examinés chez les rats Sprague-Dawley et un examen histologique du foie, des reins, des testicules et du pancréas a été effectué sur des rats Wistar dans les autres groupes de doses.

Effets observés

Au cours de la période d'exposition (90 jours), quelques décès sont survenus de manière aléatoire dans les divers groupes d'animaux pour les deux essais. Dans la mesure où la mortalité n'est pas dose-dépendante, elle ne peut pas être attribuée à l'exposition au BBzP.

Réduction des gains de poids

Une légère réduction des gains de poids corporel non dose dépendante par rapport aux témoins a été observée chez tous les animaux mâles exposés (Sprague Dawley et Wistar) au BBzP et uniquement aux doses intermédiaire et élevée chez les femelles. A noter que chez les rats Sprague Dawley, la prise de nourriture n'ayant pas été évaluée, il est difficile d'attribuer les

¹⁷ L'indice de réfraction permet de mesurer la densité urinaire c'est à dire la capacité de concentration et de dilution des tubules rénaux

variations de gains de poids corporel à l'exposition au BBzP. En revanche chez les rats Wistar, l'absence de changement dans la prise de nourriture des animaux suggère que les variations de poids corporels observées à la dose la plus élevée sont attribuables à l'exposition au BBzP.

Les augmentations du poids relatif des organes chez les animaux exposés par rapport aux témoins, sont limitées au foie (Sprague Dawley : 16-31% et Wistar : 4-28%), reins (Sprague Dawley mâle : 6-11% et Wistar : 8-19%) et au cæcum (12-27% uniquement chez les femelles Wistar).

Aucune modification des paramètres cliniques chez les rats Sprague-Dawley n'a été observée, alors que chez les rats Wistar mâles, les auteurs rapportent une anémie légère à la dose de 960 mg/kg/j et une baisse du pH urinaire à partir de 381 mg/kg/j (les valeurs de ces modifications ne sont pas communiquées par les auteurs).

Principaux résultats de l'étude

L'examen macroscopique effectué sur les 2 souches de rat n'a révélé aucune modification pathologique à l'exception d'une augmentation de l'incidence de foyers inflammatoires dans le foie des rats mâles Wistar, observée aux doses intermédiaire et élevée (valeur non indiquée).

Les modifications histopathologiques sont limitées au foie et au pancréas des rats mâles Wistar. Les lésions hépatiques consistent en de petites zones de nécroses cellulaires observées à la plus forte dose (960 mg/kg/j). Les lésions endocrines du pancréas consistent en un élargissement des îlots de Langerhans avec vacuolisation cellulaire, une congestion périphérique de ces îlots et dans certains cas, une infiltration des cellules inflammatoires des îlots périphériques. Les modifications exocrines du pancréas sont moins fréquentes et incluent des noyaux pycnotiques, une atrophie acineuse et une infiltration cellulaire inflammatoire péri-acineuse. Aucune lésion histologique n'a été rapportée ni chez les rats Sprague Dawley ni chez les femelles Wistar.

Le Tableau 4 résume les modifications histopathologiques en fonction des niveaux d'exposition.

Tableau 4 : Modifications histologiques observés dans l'étude 90 jours par voie orale

Espèce	Doses (mg/kg)	Foie	Testicules	Pancréas
Rats Sprague Dawley mâles	188-1500	-	-	-
Rats Wistar mâles	151	-	-	-
	381	-	-	+
	960	+	-	+

- Absence de modification

+ Présence de modifications

Il semble que les rats Wistar soient plus sensibles que les Sprague-Dawley à une exposition au BBzP sur la base des résultats de cette étude.

A noter que la publication de Hammond *et al.* (1987) n'indique pas le nombre d'animaux atteints contrairement au document OMS¹⁸ qui le fournit. Le Tableau 5 adapté du document de l'OMS (WHO, 1999) complète les données de Hammond *et al.* (1987). Il permet le calcul d'une benchmark-dose (BMD) pour les lésions pancréatiques observées dans l'étude d'exposition par voie orale de 13 semaines décrite par Hammond *et al.* (1987).

Tableau 5 : Calcul d'une benchmark dose à partir des données de Hammond et al. (1987) (WHO, 1999)

Etude	Effet	Données pour le calcul de la	Estimations de paramètre
-------	-------	------------------------------	--------------------------

¹⁸ Organisation Mondiale de la Santé (World Health Organisation WHO en anglais)

(référence)		benchmark dose		Benchmark dose
		Dose	Réponse	
Etude subchronique (alimentation), rats Wistar (27-45/groupe) pendant 3 mois (Compagnie Monsanto 1980a ; Hammond et al., 1987)	LOAEL = 381 mg/kg pc/j (sur la base de lésions histopathologiques du pancréas chez les mâles aux deux doses les plus élevées) LOEL = 171mg/kg pc/j (sur la base d'une augmentation du poids relatif des reins, du foie et du cæcum à toutes les doses chez les femelles)	Males : Témoin 151 mg/kg/j 381 mg/kg/j 960 mg/kg/j	Lesions pancréatiques: 0/27 (0%) 0/14 (0%) 8/15 (53%) 13/14 (93%)	Dose 5% : 167 mg/kg pc/j Limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95% : 132 mg/kg pc/j

Cette étude permet de fixer un NOAEL de 151 mg/kg/j, et un LOAEL de 381 mg/kg/j pour les rats Wistar mâles. Ces valeurs sont basées sur :

- les lésions histopathologiques du pancréas
- les modifications pathologiques au niveau du foie (tâches rouges)
- une augmentation du poids des reins.

Dans une étude du NTP (1997), des groupes de 15 rats mâles Fisher F344/N (âgés de 6 semaines au début de l'exposition) ont été alimentés avec de la nourriture contenant du BBzP à la concentration de 0, 300, 900, 2 800, 8 300, et 25 000 ppm (correspondant respectivement à 0, 30, 60, 180, 550¹⁹, et 1 660 mg/kg/j) pendant 26 semaines. La nourriture et l'eau ont été fournies sans restriction et le nombre d'animaux par cage était de 5. Ils ont été pesés au début et à la fin de l'étude, ainsi que chaque semaine pendant l'exposition. La prise de nourriture a été évaluée chaque semaine (sauf dans le groupe exposé à 25 000 ppm)²⁰. Les observations cliniques ont été notées quotidiennement. A la fin de l'étude, des nécropsies ont été effectuées sur tous les animaux et les poids des organes suivants ont été évalués : cerveau, cœur, rein droit, foie, poumon, prostate, vésicule séminale, testicule droit, et thymus.

Un examen histopathologique complet (incluant la majorité des organes : cerveau, glandes surrénales, œsophage, cœur, intestin, colon, cæcum, rectum, rein, foie, poumon, prostate, glande salivaire, épидидyme, thymus, vésicule séminale, testicule, etc.) a été réalisé sur tous les animaux exposés à 1 660 mg/kg/j et les témoins. De plus, l'épididyme, la prostate, les vésicules séminales et les testicules ont également été examinés chez tous les autres groupes exposés au BBzP.

Des prélèvements sanguins ont été effectués à J30, J60, J90, J120, J150 et à la fin de l'étude, chez tous les rats (sauf à J120 et J150 pour ceux exposés à 1660 mg/kg/j). Plusieurs paramètres hématologiques ont été mesurés : l'hématocrite, l'hémoglobine, le nombre de réticulocytes et d'érythrocytes, le volume cellulaire moyen, la concentration en hémoglobine, plaquettes et le nombre total et différentiel des leucocytes.

¹⁹ pour ces 3 doses estimations fournies par les auteurs

²⁰ Les auteurs indiquent que la prise de nourriture des animaux exposés à 25 000 ppm n'a pas été évaluée en raison de d'un gaspillage excessif de la nourriture rendue moins appétante à cette forte concentration

A la fin de l'étude, des échantillons de sperme ont été prélevés chez les groupes exposés à 0, 300, 8 300 et 25 000 ppm (soit 0, 30, 550 et 1 660 mg/kg/j) pour déterminer la réserve spermatique, la motilité et la morphologie des spermatozoïdes.

Des décès ont été constatés chez 2 animaux témoins, 3 animaux exposés respectivement à 20, 60, et 180 mg/kg/j et 4 animaux exposés à 1 600 mg/kg/j lors des anesthésies précédant les prélèvements sanguins. Aucun décès n'a été attribué au BBzP, quelle que soit la dose considérée. Aucun effet toxique n'a été observé chez les animaux exposés à 300, 900 et 2 800 ppm (soit 30, 60, et 180 mg/kg/j). A l'exception du groupe exposé à la plus forte dose, les animaux exposés au BBzP n'ont pas montré de modifications macroscopiques au niveau des organes. De même, aucun signe clinique attribuable à l'exposition au BBzP n'a été relevé dans cette étude. La progression en poids était normale dans tous les groupes à l'exception de celui exposé à 25 000 ppm soit 1660 mg/kg/j, pour lequel elle était significativement plus faible en comparaison avec les témoins. La prise de nourriture des rats exposés au BBzP était comparable à celle des témoins (à noter qu'elle n'a pas été évaluée dans le groupe exposé à 1 660 mg/kg/j).

Une augmentation significative du poids relatif ($P < 0.05$) du foie a été observée chez les rats exposés à 550 et 1 660 mg/kg/j (14 et 42 % respectivement). Dans le groupe exposé à 1660 mg/kg/j, une augmentation du poids relatif du cerveau et une augmentation du poids relatif des reins ont été mises en évidence. Dans ce même groupe, une anémie macrocytaire caractérisée par une diminution de la numération érythrocytaire et une augmentation du volume globulaire moyen ont été notées. Une augmentation de la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine et de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine par rapport aux témoins a été observée de J30 à J180 dans les groupes exposés à 550 et 1 660 mg/kg/j.

Concernant la sphère de la reproduction, les effets observés dans le groupe exposé à 1660 mg/kg/j sont : une diminution du poids des testicules et de l'épididyme, des lésions au niveau des testicules (atrophie des tubules séminifères, présence de cellules géantes et hypospermie) et de l'épididyme (hypospermie et débris cellulaires et une diminution de la réserve spermatique épидидymaire).

Dans le rapport de la Commission européenne (EC, 2007), un NOAEL de 180 mg/kg/j et un LOAEL de 550 mg/kg/j sont proposés sur la base de l'augmentation du poids du foie et des modifications de certains paramètres hématologiques (teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine).

Dans le rapport de la Commission européenne (EC, 2007) figure le résumé d'une étude de 90 jours chez le chien Beagle ($n=3$) exposé au BBzP *via* l'alimentation à des doses comprises entre 10 000 et 50 000 ppm (soit de 400-700 mg/kg/j à 1852-1973 mg/kg/j) (données non publiées par Monsanto décrite dans Hammond 1987). Le seul effet observé était une diminution du poids corporel à 1 852 mg/kg/j chez les mâles et dès 1270 mg/kg/j chez les femelles. En raison de la faible appétence du régime alimentaire (contenant la substance d'essai) et de l'absence d'effet adverse, les auteurs du rapport de la Commission européenne ont identifié un NOAEL de 1852 mg/kg/j pour les mâles et de 1973 mg/kg/j pour les femelles. Les auteurs du rapport d'évaluation des risques attribuent l'importante différence de niveau de dose entre chien, rat et souris à des différences pharmacocinétiques. Chez le chien, environ 90 % de la dose de BBzP a été mesurée dans les fèces après une période de 4 heures (Erickson, 1965 cité par EC, 2007).

Dans une étude non publiée mais décrite dans la base IRIS de l'US-EPA²¹ (NTP, 1985 cité dans US-EPA, 2003), des rats mâles F344/N (15/groupe) ont été exposés *via* l'alimentation au BBzP (concentrations de 0 – 0,03 – 0,09 – 0,28 – 0,83 et 2,5% soit 17, 51, 159, 470, et 1 417 mg/kg/j) pendant 26 semaines. Aucun effet toxique n'a été observé dans les trois premiers groupes de doses (17, 51, 159 mg/kg/j).

²¹ United-States Environmental Protection Agency

Les rats exposés aux doses inférieures à 1417 mg/kg/j n'ont montré aucune modification macroscopique au niveau des organes examinés. A la dose de 470 mg/kg/j, les effets observés concernaient des augmentations significatives ($P < 0.05$) du poids absolu du foie, des rapports de poids : foie/corps total et foie/cerveau et une augmentation de la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine.

A la dose de 1417 mg/kg/j, les auteurs ont observé une diminution significative du poids du cœur, des reins, des poumons, des vésicules séminales et des testicules par rapport aux animaux témoins. Des effets hématologiques ont également été constatés : diminution de la masse des globules rouges, du taux d'hémoglobine, de l'hématocrite et du nombre d'érythrocytes. Les reins de 6 animaux sur 15 contenaient des zones corticales focales atrophiées. Des lésions testiculaires caractérisées par une atrophie des tubules séminifères et une aspermie ont été notées.

L'US-EPA propose un NOAEL de 159 mg/kg/j sur la base d'une augmentation du poids du foie observée à la dose supérieure.

Prolifération des peroxysomes

La prolifération de peroxysomes hépatiques est induite par de nombreux phtalates chez les rongeurs. Cet effet se manifeste notamment par l'augmentation de l'activité des enzymes 11-, 12-acide laurique hydroxylase (LAH-11 et LAH-12) et palmitoyl CoA oxydase.

Un NOAEL de 540 mg/kg/j peut être déduit d'une étude chez des rats Fisher exposés *via* l'alimentation au BBzP pendant 28 jours. A la dose supérieure, une augmentation de l'activité de la palmitoyl CoA oxydase est observée (BIBRA, 1992 cité par EC, 2007).

L'examen microscopique du foie de 2 rats/sexe exposés à 2,5 % (soit 1250 mg/kg/j) de BBzP *via* l'alimentation révèle une légère augmentation du nombre et de la taille des peroxysomes (l'examen ayant été réalisé uniquement dans ce groupe de dose) (BIBRA, 1985 cité par EC, 2007).

Les travaux du NTP (1997) montre une augmentation de la prolifération de peroxysomes hépatique (augmentation de l'activité de la palmitoyl CoA oxydase et de la carnitine acétyl transférase) chez des rates (femelles) F344/N exposées *via* l'alimentation à la dose de 300 mg/kg /j de BBzP pendant 1 ou 12 mois.

Tableau 6 : Synthèse des études de toxicité générale

Espèce, voie, durée, et niveaux d'exposition.	Effet(s) significatifs (s)	NOAEL (mg/kg/j) ou NOAEL (mg/m ³)	LOAEL (mg/kg/j) ou LOAEL (mg/m ³)	Référence
Rats Sprague Dawley, alimentation, 90j, (0,188, 375, 750, 1125, et 1500 mg/kg/j)	Augmentation significative du poids relatif du foie chez les femelles et de celui des reins chez les mâles. Aucun changement histologique	375mg/kg/j	femelles 750mg/kg/j	Hammond <i>et al.</i> , 1987
Rats mâles Wistar, alimentation, 90j, (0,151, 381, 960 mg/kg/j)	Modifications histopathologiques du pancréas Lésions histo-pathologiques du foie Augmentation du poids relatif des reins. Baisse du pH urinaire	151	381	Hammond <i>et al.</i> , 1987
Rats mâles et femelles Sprague Dawley, inhalation, 90j, (0,51, 218, 789 mg/m ³)	Baisse du poids relatif des reins et du foie et diminution de la concentration sérique en glucose chez les mâles	218 mg/m ³	789 mg/m ³	Hammond <i>et al.</i> , 1987
Chien Beagle, alimentation, 90 j, 3/sexe/groupe, (0,400, 1000, 1850 mg/kg/j pour les mâles; et 0, 700, 1270, et 1973 mg/kg/j pour les femelles)	Pas de modifications hématologiques, histopathologiques, ni des fonctions urinaires, rénales, et hépatiques. Baisse du poids corporel à forte dose attribuée par les auteurs à la faible consommation de nourriture, due à sa faible palatabilité.	1852 (mâles) 1973 (femelles)	- -	Hammond <i>et al.</i> , 1987
Rats mâles F344/N, alimentation, 180j (17, 51, 159, 470, et 1417 mg/kg/j)	Augmentation du poids relatif du foie. Augmentation de la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine.	159	470	NTP 1985
Rats mâles Fisher, alimentation, 180j soit 26 semaines (20, 60, 180, 550, et 1660 mg/kg/j)	Augmentation du poids relatif du foie. Augmentation de la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine.	180	550	NTP 1997

Résumé des données de toxicité générale par doses répétées

Les expositions répétées au BBzP chez le rat conduisent, aux plus faibles doses (120 à 380 mg/kg/j), à une diminution de la prise de poids, une augmentation du poids relatif de certains organes (notamment le foie et les reins) et des lésions pathologiques au niveau du pancréas. Ces lésions touchent aussi bien le pancréas endocrine (avec élargissement, vacuolisation cellulaire, et

congestion périphérique des îlots de Langerhans) que le pancréas exocrine (avec présence de noyaux pycnotiques, une atrophie acineuse et une infiltration cellulaire inflammatoire péri-acineuse). A plus fortes doses, sont observés : des effets hématologiques, une prolifération de peroxyosomes hépatiques, des dégénérescences ou des lésions au niveau du foie (observés chez les rats Wistar et non pas les rats Sprague-Dawley), des reins et des organes reproducteurs chez le mâle (testicules, épидидyme, prostate) ainsi que des effets sur la fertilité (hypospermie, débris cellulaires et diminution de la réserve spermatique épидидymaire). Chez la souris et le chien Beagle, seule une diminution de la progression en poids corporel a été observée dans les études expérimentales.

4.2.5 Génotoxicité

Le BBzP a fait l'objet de nombreuses études pour tester son potentiel mutagène *in vitro* et *in vivo*.

4.2.5.1 Études *in vitro*

Selon le rapport de la Commission européenne, le BBzP n'induit pas de mutations sur les cellules procaryotes et eucaryotes. Il induit des modifications morphologiques sur des cellules embryonnaires du hamster syrien, mais pas dans le système de transformation cellulaire BALB/3T3. Il n'induit ni des mutations létales dominantes chez la souris ni des micronoyaux chez les rats femelles à faible dose (182 µg/kg/j *via* l'eau de boisson) (EC, 2007).

4.2.5.2 Études *in vivo*

Dans une étude expérimentale du NTP, des échanges de chromatides sœurs (ECS) ont été observés dans les cellules de moelle osseuse de souris B6C3F1 mâles traitées par injection intra-péritonéale de BBzP (doses : 0, 1 250, 2 500 et 5 000 mg/kg). Le taux d'ECS comparé au groupe témoin montre une tendance à l'augmentation, statistiquement significative uniquement si le groupe exposé à la plus forte dose est exclu de l'analyse. Ce résultat est difficilement interprétable d'autant que l'expérimentation n'a pas été répétée (EC, 2007).

Le CIRC a conclu dans son évaluation de 1999, que le BBzP n'était pas génotoxique, à l'exception d'une faible clastogénicité sur les cellules de moelle osseuse de souris testées *in vivo* (IARC, 1999).

Sur la base des données disponibles, la Commission Européenne conclut en 2007 que le BBzP n'est pas mutagène (EC, 2007).

4.2.6 Cancérogénicité

Plusieurs études ont porté sur la cancérogénicité du BBzP chez des rats et des souris exposés par voie orale. Aucune étude par inhalation n'a été identifiée dans la littérature.

Une augmentation significative de l'incidence des leucémies chez des rates F344 exposées *via* l'alimentation à 720 mg/kg/j a été observée au cours d'une étude de 102 semaines du NTP (témoins = 7/49 (14%) ; faible dose (360 mg/kg/j) = 7/49 (14%) ; haute dose (720 mg/kg/j) = 18/50 (36%) ; p=0,006) (NTP, 1982). Dans cette étude, après 14 semaines d'exposition, plusieurs rats mâles sont décédés suite à une hémorragie interne dont l'origine reste inexplicée. Par conséquent, tous les rats mâles ont été sacrifiés lors de la 29^{ème} ou 30^{ème} semaine. De ce fait, cette étude est jugée insuffisante pour évaluer le potentiel cancérogène du BBzP chez les rats mâles. Un panel d'experts du NTP ayant expertisé l'étude conclut que le BBzP est probablement cancérigène chez les rates F344 causant une augmentation de l'incidence des leucémies des cellules mononucléaires.

Une étude semblable à celle susmentionnée réalisée chez la souris B6C3F1 (mâles et femelles) n'a révélé aucune augmentation d'incidence de tumeurs chez les animaux exposés au BBzP (doses : 780 et 1560 mg/kg/j) par rapport aux témoins (EC, 2007).

Une étude plus récente (NTP, 1997) utilisant la même souche de rat que précédemment (n=10/sexe/dose) ne retrouve pas d'augmentation de l'incidence des leucémies y compris lors d'exposition à des doses plus élevées (mâles : 0, 120, 240, 500 mg/kg/j et femelles : 0, 300, 600, 1 200 mg/kg/j) pendant 2 ans. En revanche, une augmentation significative de l'incidence d'adénomes des cellules acineuses (témoins 3/50; 1^{ère} dose 2/49; 2^{ème} dose 3/50; 3^{ème} dose 10/50) et d'adénomes combinés à des carcinomes (3/50, 2/49, 3/50 et 11/50 respectivement à 0, 120, 240 et 500 mg/kg/j) a été observée chez les rats mâles exposés à 500 mg/kg/j. L'un d'entre eux présentait un carcinome pancréatique. Ce type d'effet n'avait jamais été observé chez les contrôles historiques. Dans le même groupe, une augmentation de l'incidence des hyperplasies acineuses pancréatiques (sévérité légère à modérée) a été relevée (4/50, 0/49, 9/50, 12/50 respectivement à 0, 120, 240 et 500 mg/kg/j). L'examen des femelles a permis de mettre en évidence la présence d'une augmentation de l'incidence des hyperplasies²² et de papillomes²³ « transitionnels » dans la vessie à la dose de 1200 mg/kg/j. Des lésions rénales non doses-dépendantes ont également été observées uniquement chez les femelles (diminution de la minéralisation rénale, néphropathie et hyperplasie rénale).

En 1999, le CIRC a conclu que le BBzP ne pouvait être classé comme cancérigène pour l'Homme (groupe 3) en raison de l'absence de donnée chez l'Homme et en raison de preuves de cancérigénicité limitées chez l'animal (IARC, 1999).

4.2.7 Reprotoxicité

4.2.7.1 Effets sur la fonction sexuelle et la fertilité

Plusieurs études sur la reprotoxicité du BBzP ont été réalisées essentiellement chez le rat. Les protocoles de ces études utilisent pour la plupart une exposition par voie orale (gavage ou alimentation). Seules les études utiles pour dériver une VLEP sont détaillées dans ce rapport. Elles sont rapportées selon le type d'effets (effets sur la fertilité, effets sur le développement) et les périodes d'exposition (exposition adulte, pendant la grossesse ou sur plusieurs générations).

²² Incidence hyperplasie de la vessie chez les femelles: témoins : 4/50 ; 300 mg/kg/j : 0/50 ; 600 mg/kg/j : 1/50 ; 1200 mg/kg/j : 10/50 statistiquement significatif)

²³ Incidence papillomes chez les femelles : témoins : 1/50 ; 300 mg/kg/j : 0/50 ; 600 mg/kg/j : 0/50 ; 1200 mg/kg/j : 2/50 statistiquement significatif) ; supérieures aux valeurs des contrôles historiques

Information préalable sur la maturité sexuelle des rats

Durée de la gestation : 21 — 23 jours

Puberté chez la femelle

Maximum de production d'hormone folliculostimulante(FSH) à J12

Ouverture du vagin : J33 — J42

Cycles œstraux réguliers : une semaine après l'ouverture du vagin

Âge de maturité sexuelle : 65 — 110 jours

Vie reproductive : 350 — 440 jours

Puberté chez le mâle

Apparition du sperme : 20 — 30 jours après la naissance

Descente testiculaire : J30 — J60

Sperme testiculaire chez 100 % des animaux à J70

Poids maximum des testicules à J70

Sperme épидидymaire chez 100 % des animaux à J90, augmentation des récepteurs à la FSH dans les cellules de Sertoli, les niveaux hypothalamiques de GnRH continuent d'augmenter durant le développement postnatal et même à l'âge adulte

Etudes chez le mâle adulte

En plus de l'étude de 26 semaines susmentionnée (cf. 4.2.4.), le NTP a investigué les effets d'une exposition au BBzP par voie orale sur la fertilité de rats mâles.

Des rats F344 mâles (15 rats/groupe, âgés de 6 semaines au début de l'exposition) ont été exposés *via* l'alimentation au BBzP à des doses de 0, 20, 200 et 2200 mg/kg/j pendant 10 semaines (NTP, 1997). A la fin de l'exposition, une période de récupération de 2 jours a été accordée aux mâles avant de les mettre chacun en cohabitation pendant 7 jours avec deux femelles (âgées de 20-24 semaines) non exposées pour accouplement. Dès le premier jour de détection d'un bouchon vaginal ou de sperme (GD0), les femelles ont été placées dans des cages individuelles. Les signes cliniques ont été évalués tous les jours et la prise de nourriture toutes les semaines chez les mâles. Ces derniers ont été pesés au début de l'exposition, puis chaque semaine. Les femelles ont été pesées au début de la période d'accouplement et aux jours 0, 6, 9, et 13 de gestation. A la fin de la période d'accouplement, les rats mâles ont été anesthésiés avant un prélèvement sanguin au sinus rétro-orbitaire puis sacrifiés. Les femelles fécondées ont été sacrifiées lors du 13^{ème} jour de gestation (GD13) et les femelles non gravides, 13 jours après la fin de la période d'accouplement. Lors de l'autopsie, le cerveau, le cœur, le rein droit, le foie, le poumon, la prostate, la vésicule séminale, le testicule droit et le thymus des rats mâles ont été pesés. Les paramètres hématologiques mesurés comprenaient l'hématocrite, la concentration d'hémoglobine, la numération de réticulocytes et d'érythrocytes, le volume globulaire moyen, la numération des plaquettes et la numération totale et différentielle des leucocytes. Un examen histopathologique complet a été réalisé sur tous les rats mâles appartenant au groupe témoin et au groupe exposé à la plus forte dose. En outre, un examen histopathologique de l'épididyme, de la prostate, de la vésicule séminale et des testicules a été réalisé chez tous les mâles. Les effets du BBzP sur la reproduction ont été évalués notamment par l'analyse du contenu de la queue de l'épididyme chez tous les mâles, (numération des spermatozoïdes, motilité et morphologie). Les ovaires et l'utérus des femelles ont également été examinés. Les indices de fertilité chez les mâles et les femelles, l'évolution du poids des femelles et plusieurs paramètres relatifs au développement des fœtus ont été évalués (nombre de fœtus morts ou vivants, de résorptions, de corps jaunes et les anomalies macroscopiques).

Aucun signe clinique de toxicité n'a été observé au cours de cette étude. Les effets observés dans le groupe exposé à la plus forte dose (2200 mg/kg/j) sont : une diminution du poids corporel (29% par rapport aux témoins) et de la prise de nourriture, une modification de certains paramètres hématologiques (anémie légère caractérisée par une diminution de la numération érythrocytaire, une augmentation de la teneur corpusculaire en hémoglobine et une augmentation du nombre de plaquettes).

Concernant la sphère de la reproduction, dans ce même groupe (2200 mg/kg/j) ont été observées : une diminution du poids des testicules, de la prostate et de l'épididyme, une diminution significative de la réserve spermatique, des atteintes testiculaires (atrophie, présence de cellules géantes, dégénérescence de l'épithélium des tubes séminifères) et épидидymaires (nécrose, inflammation chronique, hypospermie). Une diminution de la réserve spermatique (30%) est également observée à la dose de 200 mg/kg/j. Cette diminution dose dépendante est statistiquement significative à partir de 200 mg/kg/j (concentration de spermatozoïdes dans épидидyme par gramme de tissu : $324,14 \cdot 10^6$ à 20 mg/kg/j ; $261,47 \cdot 10^6$ à 200 mg/kg/j ; $0,57 \cdot 10^6$ à 2200 mg/kg/j ; la valeur dans le groupe contrôle étant de $373,94 \cdot 10^6$).

Cependant, selon le NTP-CERHR (2003), l'observation de cet effet à la dose de 200 mg/kg/j ne peut pas être utilisée pour identifier un NOAEL, car d'une part la fertilité dans ce groupe de dose n'était pas différente des témoins et d'autre part, le temps nécessaire pour la régénération des spermatozoïdes dans l'épididyme après éjaculation (4-7 jours) n'a pas été respecté. En effet, 13/15 rats exposés à 200 mg/kg/j ont été sacrifiés moins de 4 jours après la détection d'un bouchon vaginal chez les femelles accouplées alors que seulement 7 rats témoins l'ont été au même moment. De plus, les résultats des travaux du NTP (décrit précédemment) chez des rats exposés pendant 26 semaines au BBzP selon un protocole similaire ne montrent pas d'effet sur la réserve spermatique à la dose de 550 mg/kg/j. Par conséquent, à partir de l'argumentation ci-dessus, le rapport du NTP-CERHR conclut à un NOAEL de 200 mg/kg/j sur la base des effets sur les testicules (lésions, poids), l'épididyme (lésions), la prostate (poids), la réserve spermatique et l'atteinte de la fertilité observés à 2200 mg/kg/j (NTP-CERHR, 2003).

A noter que dans l'étude de 26 semaines, des effets comparables (aussi bien qualitativement que quantitativement) sur les testicules et l'épididyme ont été observés dans le groupe exposé à la plus forte dose (1600mg/kg/j).

De plus, malgré la présence de sperme détectée chez 10 femelles sur un total de 30 après la période d'accouplement, aucune femelle accouplée aux mâles exposés à 2200 mg/kg/j n'était gravide lors de l'examen à GD13 (pas de différence significative sur le nombre de femelles gestantes par rapport aux témoins à 20 et 200 mg/kg/j). Aucune différence par rapport aux témoins n'a été observée sur le poids corporel des mères accouplées à des mâles exposés à 20 et 200 mg/kg/j ni sur la taille des portées, le nombre de fœtus morts ou vivants, le nombre d'implantations et de résorptions.

Les résultats de l'étude sont résumés dans les tableaux suivants :

Tableau 7 : Résumé des effets observés sur les organes de la reproduction et les paramètres spermatiques

Dose (mg/kg/j)	0	20	200	2200
n	15	14	15	15
Poids (g)				
Poids corporel à l'autopsie	317±4 ^a	315±4 ^b	310±4	225±5 ^{**}
Queue de l'épididyme du testicule droit	0.221±0.04	0.196±0.023	0.179±0.005	0.068±0.005 ^{**c}
Épididyme droit	0.541±0.04	0.505±0.026 ^b	0.486±0.013	0.23±0.009 ^{**}
Testicule droit	1.497±0.017	1.378±0.081 ^b	1.502±0.019	0.442±0.014 ^{**}
Paramètres spermatiques de l'épididyme				
- Mobilité (%)	79.21±3.38	73.24±6.14 ^b	76.49±3.29	- ^d
- Concentration (10 ⁶ /g de tissu)	373.94±39.52	324.14±49.5	261.47±39.5*	0.567±0.39 ^{**}
- Anormaux (%)	0.987±0.106	0.857±0.064	0.96±0.105	-

* Différence significative (P≤0.05) ; ** Différence significative (P≤0.01)

^a moyennes ± erreurs standards ; ^b n=15 ; ^c n=14 ; ^d non mesuré, trop peu de spermatozoïdes

Tableau 8 : Incidences de lésions testiculaires non néoplasiques

Dose (mg/kg/j)	0	20	200	2200
Tubes séminifères avec	15 ^a	15	15	15
- Atrophies ^b	0	1 (4.0) ^c	0	15 ^{**} (4.0)
- Cellules gliales	0	0	0	10 ^{**} (1.3)
- Nécroses	0	0	0	3 (1.0)
Épididymes avec	15 ^a	15	15	15
- Hypospermie	0	1 (4.0) ^c	0	15 ^{**} (4.0)
- Inflammation des queues	0	0	0	4* (1.3)
- Débris cellulaires	0	0	0	11 ^{**} (2.9)

* Différence significative (P≤0.05) ; ** Différence significative (P≤0.01)

^a Nombre d'animaux examinés ; ^b Nombre d'animaux avec lésions ; ^c Grade moyen de sévérité des lésions (1= minimal, 2= faible, 3= modéré, 4= marqué)

Le CES a jugé que la valeur de 200 mg/kg/j pouvait être considérée comme un NOAEL sur la base des effets sur les testicules et l'épididyme (lésions), la réserve spermatique et l'atteinte de la fertilité observés à 2200 mg/kg/j.

D'autres études classiques de toxicité ont investigué l'effet d'une exposition au BBzP, par voie orale sur les organes de la reproduction (NTP-CERHR, 2003).

Une étude chez des rats mâles Fisher 344 (n=10/groupe), exposés *via* l'alimentation, à 0, 447, 890, 1338 et 1542 mg/kg/j de BBzP, pendant 2 semaines, montre que les effets reprotoxiques n'apparaissent qu'à partir de 1338 mg/kg/j. Les effets rapportés sont une diminution du poids et une atrophie (sévérité dose dépendante) des organes reproducteurs (à partir de 1338 mg/kg/j pour les testicules, la prostate et les vésicules séminales et uniquement à 1542 mg/kg/j pour

l'épididyme), la présence de spermatozoïdes immatures dans la lumière des tubes et une nécrose de l'épithélium de l'épididyme à 1338 et 1542 mg/kg/j. Des variations des niveaux de FSH et d'hormone lutéinisante (LH) circulants ont également été notés dans les groupes exposés à des doses de 1338 et 1542 mg/kg/j. Les effets systémiques observés dans cette étude sont décrits dans le chapitre 4.2.4 (Agarwal, *et al.*, 1985 cité par NTP-CERHR, 2003 et EC, 2007).

Chez la souris B6C3F1, aucun effet sur les organes reproducteurs mâles n'a été observé à la dose de 2 058 mg/kg/j, de même que chez le chien Beagle à 1 852 mg/kg/j (NTP, 1997 ; Piersma *et al.*, 1995).

Etudes chez les mâles et femelles (exposition avant accouplement, pendant la gestation et la lactation)

Aucun effet sur la reproduction (fertilité, fécondité et organes reproducteur) n'a été mis en évidence dans une étude de toxicité de la reproduction sur 1 génération conduite selon la ligne directrice OCDE 415. Des rats Wistar ont été exposés *via* l'alimentation au BBzP²⁴, l'exposition débutant deux semaines avant l'accouplement chez les femelles et 10 semaines avant chez les mâles. La poursuite de l'exposition jusqu'à la naissance d'une deuxième portée ne modifie pas ce résultat. Les NOAEL indiqués dans le rapport de la Commission européenne pour les performances de reproduction et le développement sont respectivement de 418 et 446 mg/kg/j chez le mâle et la femelle (Monsanto TNO, 1993 cité par EC 2007).

Dans un essai de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement (selon ligne directrice OCDE 421), Piersma *et al.* (1995) ont exposé par gavage des rats WU à 250, 500 et 1000 mg/kg/j de BBzP (n=10/sexe/groupe). L'exposition des femelles a débuté 14 jours avant l'accouplement et s'est poursuivie jusqu'au 4^{ème} -6^{ème} jour post-partum. Les mâles ont été exposés 14 jours avant et 14 jours après l'accouplement (soit 28 jours). Des variations de la progression de poids et de la prise de nourriture sont notées chez les mâles et les femelles gravides exposés à la dose de 1000 mg/kg/j. Concernant les effets sur la reproduction, une baisse significative de la fertilité (nombre de femelles fécondées et nombre de naissances par portée), une réduction du poids des testicules et de l'épididyme ainsi que l'apparition de lésions testiculaires accompagnées d'une hyperplasie des cellules de Leydig et de débris cellulaires sont observées à la dose de 1000 mg/kg/j chez les mâles (génération F0). Ces effets n'apparaissent pas dans le groupe exposé à la dose de 500 mg/kg/j. L'examen des ovaires n'a révélé aucune modification (Piersma *et al.*, 1995). Un NOAEL de 500 mg/kg/j peut être déduit de cette étude sur la base des effets sur la fertilité et les testicules observés à la dose supérieure.

²⁴ Doses estimées chez le mâle : 0, 108, 206 et 418 mg/kg/j

Doses estimées chez les femelles pendant l'accouplement, la gestation et la lactation sont respectivement de 0, 106, 217 et 446 mg/kg/j ; 0, 116, 235 et 458 mg/kg/j et 0, 252, 580 et 1078 mg/kg/j.

Tableau 9 : Synthèse des études expérimentales sur les effets du BBzP sur la fonction sexuelle et la fertilité

Espèce, voie, niveaux d'exposition et durée	NOAEL	Effets	Référence
Rats mâles Fisher F344/N, nourriture, (0 – 0,625 – 1,25 – 2,5 et 5%) 0, 447, 890, 1338 et 1542 mg/kg/j, 2 semaines.	NOAEL= 890 mg/kg/j	A partir de 1338 mg/kg/j -Baisse du poids et atrophie des testicules, de la prostate, et des vésicules séminales, - Présence de spermatozoïdes immatures, et de nécroses de l'épithélium de l'épididyme.	Agarwal, 1985
Rats Wistar, nourriture, 105, 209, et 418 mg/kg/j, 10 semaines.	NOAEL= 418 mg/kg/j pour les mâles, et 446 mg/kg/j pour les femelles	- Aucun effet sur les paramètres de la reproduction évalués	TNO, 1993 cité par EC, 2007
Rats WU, gavage, 250, 500, et 1000 mg/kg/j, 29 jours (mâles) 14 jours avant accouplement - 6 ^{ème} jour post-partum	NOAEL= 500 mg/kg/j	A 1000 mg/kg/j -Baisse significative de la fertilité, - Lésions testiculaires, - Baisse du poids des testicules et de l'épididyme (diminution du poids corporel des petits dès 500 mg/kg/j)	Piersma, <i>et al.</i> , 1995
Rats Fisher F344/N mâles, nourriture, 0, 20, 200, 2200 mg/kg/j, 10 semaines.	NOEL = 20 mg/kg/j pour les effets sur la réserve spermatique NOAEL = 200 mg/kg/j	A 2200 mg/kg/j - Baisse significative ($p \leq 0.05$) de la réserve spermatique -Diminution du poids des testicules et de l'épididyme - Lésions testiculaires et épидидymaires - Aucune femelle gravide après accouplement	NTP, 1997
Rats Fisher F344/N mâles, nourriture, 180, 550, et 1660 mg/kg/j, 26 semaines.	NOAEL = 550 mg/kg/j	A 1660 mg/kg/j -Baisse de poids et dégénérescence des testicules et de l'épididyme -Baisse de la réserve spermatique épидидymaire.	NTP, 1997

4.2.7.2 Etudes multigénérationnelles

Plusieurs études multigénérationnelles sur le BBzP chez le rat Sprague-Dawley ont été identifiées dans la littérature. Dans le cadre de l'élaboration de VLEP, l'exposition des animaux avant l'accouplement, pendant la gestation et lactation ou l'exposition multigénérationnelle ne sont pas pertinentes au regard du scénario d'exposition du travailleur. Cependant ces études peuvent s'avérer utiles pour identifier les éventuels effets du BBzP sur les organes reproducteurs des animaux et leur descendance.

Nagao *et al.* (2000) ont investigué les effets du BBzP sur la fertilité dans une étude sur deux générations chez des rats Sprague-Dawley²⁵ exposés par gavage à 0, 20, 100 et 500 mg/kg/j (n=25/sexe/groupe). Cette étude visait également à évaluer la toxicité subchronique du BBzP.

Les rats mâles F0 exposés à 500 mg/kg/j (dose la plus élevée) ont montré une diminution du gain de poids corporel, sans baisse significative de la prise de nourriture. Une augmentation du poids des reins (chez les mâles et femelles) et du foie (les mâles) ainsi qu'une diminution du poids des ovaires ont été observées (à noter que la significativité statistique n'est atteinte que dans le groupe exposé à 500 mg/kg/j). En revanche, l'examen histologique n'a montré aucune modification y compris au niveau des organes reproducteurs chez les mâles et femelles de la génération F0. De même, l'examen du sperme n'a révélé aucune modification et la durée des cycles œstraux chez les rates était comparable à celle des témoins. Une diminution des concentrations sériques en testostérone et T4 (mâles et femelles) ainsi qu'une augmentation de la prolactine (femelles) ont également été rapportées chez les rats de la génération F0 exposés à 500 mg/kg/j de BBzP comparativement aux témoins. La concentration en FSH était significativement plus élevée dès 100 mg/kg/j chez les mâles F0. Toutefois, les performances reproductives (indice d'accouplement²⁶, indice de fertilité²⁷, durée de la gestation, nombre de naissances vivantes) des animaux F0 étaient identiques à celles des témoins.

Chez les descendants F1, une faible diminution du poids corporel à la naissance (mâle et femelle) était notée à partir de la dose de 100 mg/kg/j. Cette diminution du poids corporel par rapport aux témoins a persisté jusqu'à PND21 chez les rats F1 issus de mères exposées à 500 mg/kg/j, sans qu'aucune atteinte sur la viabilité des animaux ne soit rapportée. A la naissance, une distance anogénitale réduite chez les mâles (2,4 mm versus 2,6 mm) du groupe exposé *in utero* à 500 mg/kg/j a également été mise en évidence (NOAEL = 100 mg/kg/j). Les rats F1 sevrés exposés à 500 mg/kg/j présentaient une diminution du poids des testicules et des ovaires ainsi qu'une augmentation du poids de l'utérus par rapport aux animaux témoins. Un léger retard de l'âge de la séparation du prépuce chez les mâles (44,5 versus 43,2 jours) a été observé à la plus forte dose (500 mg/kg/j). Une diminution du poids absolu des organes reproducteurs (testicules, épидидyme, vésicule séminale) et une augmentation de l'incidence de modifications histopathologiques (au niveau des testicules : atrophie des tubules séminifères, diminution du nombre de cellules germinales et œdème interstitielle ainsi qu'une diminution du nombre de spermatozoïdes dans l'épididyme) ont été notés chez les mâles F1 âgés de 10 ou 18 semaines. Concernant les descendants de la génération F2, aucun effet toxique systémique, développemental ou reproductif n'a été rapporté dans cette étude.

Une étude sur 2 générations, a été réalisée selon les lignes directrices de l'US-EPA : OPPTS 837.3800 chez des rats Sprague-Dawley (Tyl, *et al.*, 2004). Les parents F0 et F1 ont été exposés en alimentation continue à 0, 50, 250 et 750 mg/kg/j de BBzP pendant les 10 semaines précédant l'accouplement jusqu'à la fin de la lactation. Aucun effet toxique systémique ou sur la reproduction n'est observé chez les mâles et les femelles des trois générations du premier groupe de dose (50 mg/kg/j). Dans le groupe de dose suivant (250 mg/kg/j), le seul effet mis en évidence est une distance anogénitale plus courte à la naissance chez les descendants mâles F1 et F2 sans qu'elle ne soit accompagnée d'aucune altération de la reproduction, tant fonctionnelle que structurelle. A la plus forte dose, des effets toxiques systémiques et sur la reproduction ont été notés chez les animaux des 3 générations. Une diminution du poids corporel, une augmentation du poids du foie (associée à des modifications histopathologiques) et des reins ont été observées chez les adultes F0 et F1 exposés à la plus forte dose (750 mg/kg/j). Le poids des ovaires et de l'utérus était plus faible chez les femelles F0 et F1 exposées à 750 mg/kg/j par rapport aux témoins. Des effets

²⁵ Exposition des mâles F0 s'étend de 12 semaines avant la cohabitation jusqu'à leur sacrifice (23 semaines de vie) et les femelles F0 : 3 semaines avant la cohabitation jusqu'au 21^{ème} jour après la délivrance (environ 9 semaine). Les animaux de la génération F1 ont été exposés à partir de PND22 jusqu'à leur sacrifice.

²⁶ indice d'accouplement = nombre de mâles et de femelles accouplés/ nombre de couples mis en cohabitation

²⁷ indice de fertilité = nombre de femelles gravides/nombre de couples mis en cohabitation

toxiques sur la reproduction des parents F1 ont également été mis en évidence (atteintes de la fertilité et des organes reproducteurs mâles) dans ce groupe de dose. Chez les descendants F1 et F2 à ce niveau de dose une distance anogénitale réduite à la naissance, la persistance d'aréoles ou de mamelons (entre PND11 et PND13), des malformations au niveau de l'appareil reproducteur (à PND21 et à l'âge adulte) ont été observées chez les mâles. De plus, un retard de la puberté (mesuré par l'évaluation de l'âge à l'ouverture vaginale et à la séparation du prépuce) est noté aussi bien chez les mâles que chez les femelles F1 (non évalué chez les F2). Le NOAEL pour la toxicité systémique et la reproduction chez les parents est de 250 mg/kg/j. Un NOAEL développement de 50 mg/kg/j peut être déduit de cette étude sur la base d'une diminution significative de la distance anogénitale (chez les F1 et les F2) constatée à la dose de 250 mg/kg pc/j.

Tableau 10 : Synthèse des études multigénérationnelles sur le BBzP

Espèce, voie, niveaux d'exposition, et durée.	NOAEL	Effets	Référence
Rat Sprague-Dawley mâles et les femelles, gavage, 0, 20, 100, 500 mg/kg/j, 2 générations	NOAEL = 100 mg/kg/j pour les effets sur les organes de la reproduction. NOAEL = 20 mg/kg/j pour les effets sur le développement (diminution du poids corporel) Pas de NOAEL sur la fertilité.	- Parents F0 à 500 mg/kg/j : baisse significative du poids des ovaires sans altération de la fertilité, diminution concentration de testostérone, T4 - Génération F1 : (développement) A 100 mg/kg/j : diminution du poids des petits à la naissance (jusqu'à PND21), A 500 mg/kg/j : distance anogénitale réduite à la naissance, retard de l'âge séparation prépuce	Nagao <i>et al.</i> , 2000
Rats Sprague Dawley nourriture, 50, 250, 750 mg/kg/j, 2 générations	NOAEL = 250 mg/kg/j (effets sur le développement)	-A 750 mg/kg/j Réduction de la distance anogénitale chez la descendance mâle, avec persistance d'aréoles ou de mamelons, des malformations au niveau de l'appareil reproducteur. -Retard d'âge à la puberté chez les mâles et les femelles.	Tyl <i>et al.</i> , 2004

4.2.7.3 Effets sur le développement

Plusieurs études portant sur la toxicité sur le développement prénatal ont été publiées. Elles portent aussi bien sur les effets du BB₂P que de ceux de ses principaux métabolites : le MBzP et le MnBP. Les plus anciennes ont été reprises par le NTP-CERHR dans leur rapport de 2003. Les études montrent uniformément que le BBzP est embryo-toxique (mortalité et morbidité) et tératogène après exposition orale entre le 6^{ème} et le 15^{ème} jour de gestation chez les rats comme chez les souris. Les études les plus pertinentes sur le développement sont résumées ci-dessous.

Dans une étude de Field *et al.* (1989 cité par NTP-CERHR, 2003), des rats Sprague Dawley ont été exposés au BBzP du 6^{ème} au 15^{ème} jour de gestation *via* l'alimentation, à 0, 420, 1100, et 1640 mg/kg/j, à raison de 27 à 30 animaux par groupe de dose. Les animaux ont été sacrifiés au 20^{ème} jour de gestation et les fœtus ont été examinés. Une diminution du poids corporel, une augmentation du poids du foie (sans modification histopathologique) et une augmentation de la prise d'eau des mères exposées à 1100 et 1640 mg/kg/j ont été observés. Des signes cliniques de toxicité maternelle (ataxie, démarche anormale) ont été également observés à la dose de 1640

mg/kg/j. Concernant le développement, une augmentation du nombre de résorptions concomitante à une diminution du nombre de fœtus vivants par portée ainsi qu'une augmentation de l'incidence des malformations fœtales ont été observées à la dose 1640 mg/kg/j. De plus, l'incidence des variations fœtales par portée était également plus élevée à des doses de 1100 et 1640 mg/kg/j. Le NOAEL (pour les effets maternels et fœtaux) est de 420 mg/kg/j.

Les effets d'une exposition au BBzP *via* l'alimentation sur le développement fœtal et l'organisme maternel a été étudié chez la souris Swiss CD-1 (Price *et al.*, 1990 cité par NTP-CERHR, 2003). Des groupes de 30 souris gravides ont été exposés à 0, 182, 910, et 2330 mg/kg/j du 6^{ème} au 15^{ème} jour de gestation. Les animaux ont été pesés aux jours 0, 3, 6, 9, 12, et 15, puis pesés et sacrifiés au 17^{ème} jour. Le foie, les reins et l'utérus des mères ont été pesés, les corps jaunes comptés et les sites d'implantation embryonnaire examinés. Tous les fœtus ont été pesés et examinés pour rechercher d'éventuelles malformations externes, viscérales et squelettiques. La toxicité maternelle s'exprime par une réduction significative du gain de poids corporel aux 2 plus fortes doses (910 et 2330 mg/kg/j) et une augmentation du poids relatif du foie et des reins sans modification histopathologique, associée à une augmentation de la consommation d'eau à la plus forte dose. Les effets sur les fœtus incluent une augmentation significative des résorptions et des morts fœtales, avec une réduction concomitante du nombre de fœtus viables par portée et une augmentation des malformations externes et squelettiques aux 2 plus fortes doses. Ces malformations incluent des exencéphalies, des queues raccourcies, des anomalies cardiovasculaires, des côtes soudées et des sternums et vertèbres soudées ou anormales. Le poids fœtal était également diminué à la plus forte dose. Le NOAEL maternel et fœtal est de 182 mg/kg/j.

Les effets observés en fonction des niveaux d'exposition sont résumés dans le tableau suivant (d'après Kavlock *et al.*, 2002) :

Tableau 11 : Effets observés dans l'étude de Price *et al.* (1990 cité dans NTP-CERHR, 2003)

Nombre d'animaux par lot ^a	Dose (mg/kg/j)	Effets maternels	Effets fœtaux
29	0		
28	182	NOAEL maternel	NOAEL embryonnaire
30	910	↓ de 15% du gain de poids	↑ de morts (2.9% vs 0.7%) ↑ d'implantations non viables par portée ^b (15% vs 8%) ↓ du nombre de fœtus vivants (12 vs 13) ↑ du nombre de fœtus/portée avec malformations (14% vs 4%) et de portées avec malformations (60% vs 31%)
27	2330	↓ de 71% du gain de poids corporel ↓ corrigée de 25% de gain de poids ↑ consommation d'eau ↑ des poids relatifs du foie et des reins, sans effets pathologiques.	↑ des résorptions par portée (91% vs 7%), de portées avec résorptions (100% vs 55%) ↑ d'implantations non viables (93% vs 8%), de portées avec embryons non viables (100% vs 55%) ↓ du nombre de fœtus vivants (3 vs 13) ↓ de 17% du poids des fœtus ↑ du nombre de fœtus/portée avec malformations (89% vs 4%) et de portées avec malformations (100% vs 31%), en particulier les malformations externes et squelettiques. ↑ du nombre de fœtus avec des malformations (98% vs 29%)

^a Nombre au moment du sacrifice ; ^b les implantations non viables incluent les résorptions et les morts fœtales ; ↑ et ↓ : Variations significatives (P≤0.05)

Un NOAEL maternel et foetal de 500 mg/kg/j a été déterminé à partir d'une étude de Ema *et al.* (1992a cité par NTP-CERHR, 2003) exposant par intubation gastrique des rates gravides (GD7-GD-15). Dans le but de mieux comprendre les effets du BBzP sur l'embryogenèse, une autre étude (Ema *et al.*, 1998) a exposé par intubation gastrique des rates gravides (10-14 par groupe) et des rates pseudo gravides²⁸ (11-13 par groupe) à 0, 250, 500, 750, et 1000 mg/kg/j pendant les 8 premiers jours de gestation. Les effets observés sont une baisse du gain de poids corporel maternel dès 250 mg/kg/j, une baisse du poids foetal dès 500 mg/kg/j, et une augmentation de l'incidence des pertes post-implantatoire dès 750 mg/kg/j. La mort de 2 femelles gravides exposées à 1000 mg/kg/j a été notée et une augmentation de l'incidence des pertes pré-implantatoires. Chez les rates pseudo gravides, une diminution dose-dépendante du poids de l'utérus et des niveaux de progestérone sériques a été observée à partir de 500 mg/kg/j. Le NOAEL foetal et des femelles pseudo-gravides est de 250 mg/kg/j, et le LOAEL maternel (femelles gravides) est de 250 mg/kg/j. L'absence d'effet observé dans cette étude sur les foetus à 250 mg/kg/j pourrait peut être expliqué par une exposition uniquement en début de gestation (ne couvrant pas GD16-20).

Plusieurs autres études, portant sur la comparaison des effets du BBzP, et de ses deux métabolites majeurs (MnBP et MBzP), sur le développement embryonnaire, ont été publiées. Certaines d'entre elles, portant sur des expositions lors des périodes embryonnaires antérieures ou égales à GD15, sont résumées ci-dessous.

Dans un premier essai (Ema *et al.*, 1995), des rates Wistar gravides ont été exposées par intubation gastrique au MnBP de GD7 à GD15, à 0, 250, 500, et 625 mg/kg/j. Les premiers signes de toxicité maternelle et foetale apparaissent à partir de 500 mg/kg/j : baisse de consommation alimentaire et du gain de poids corporel et augmentation des cas de résorption, de malformations, et de morts foetales, ainsi que des pertes post-implantatoires. Le NOAEL maternel et foetal est de 250 mg/kg/j.

Un deuxième essai (Ema *et al.*, 1996a) a porté sur l'effet du MBzP selon le même protocole que celui utilisé pour le MnBP (paragraphe ci-dessus), mais avec des doses différentes : 0, 250, 313, 375, 438, et 500 mg/kg/j. Les signes de toxicité maternelle apparaissent dès la première dose avec une baisse de la consommation alimentaire dès 250 mg/kg/j, puis la baisse du gain de poids corporel à 313 mg/kg/j. La toxicité foetale (avec des malformations) apparait à partir de 313 mg/kg/j, et augmente à 438 mg/kg/j. Un LOAEL maternel de 250 mg/kg/j et un NOAEL foetal de 250 mg/kg/j sont déterminés.

Le troisième essai (Ema *et al.*, 1996b) porte sur la comparaison des effets du MBzP selon trois fenêtres d'exposition *in utero* (du 7^e au 9^e jour, du 10^e au 12^e jour et du 13^e au 15^e jour de gestation). Des groupes de 10 à 17 rates gravides Wistar, âgées de 12 semaines, ont été exposées par intubation gastrique à des doses variables selon la période d'exposition : 0, 375, 500, et 625 mg/kg/j pour la période GD7-9, et 0, 250, 375, 500, et 625 mg/kg/j pour les périodes GD10-12 et GD13-15. Les animaux ont été sacrifiés à GD20. Une augmentation significative de l'incidence des pertes post-implantatoires a été observée à partir de 500 mg/kg/j quelle que soit la période d'exposition. A partir de 375 mg/kg/j, une augmentation significative de l'incidence des cas d'effets tératogènes pour les animaux exposés à GD7-9 et ceux de GD13-15, mais pas pour ceux exposés à GD10-12. Aucun NOAEL maternel ne peut être déterminé puisque dès la première dose testée, on observe déjà un effet toxique marqué par la réduction de la consommation alimentaire (LOAEL 250 mg/kg/j). Le NOAEL pour les effets sur le développement est de 250 mg/kg/j. Les effets du MBzP peuvent être consécutifs à une exposition courte survenant pendant une fenêtre de sensibilité au cours du développement comme cela a été rapporté avec le BBzP (Ema *et al.*, 1993a cité par EC, 2007).

²⁸ décidualisation artificielle de l'endomètre

Enfin, une publication plus récente (Saillenfait *et al.*, 2003) a rapporté les résultats d'une étude portant sur la toxicité comparée des mêmes métabolites chez deux espèces : le rat Sprague-Dawley et la souris OF1. Les animaux ont été exposés par voie orale à des doses de 0 – 0,9 – 1,8 – 3,6 et/ou 5,4 mmol/kg de BBzP, MnBP et MBzP administrées en une seule fois (ces doses correspondent à 0, 280, 560, 1 120, 1 690 mg/kg de BBzP; 0, 200, 400, 800, 1200 mg/kg de MnBP et 0, 230, 460, 920, 1 380 mg/kg de MBzP) chez les souris gravides (15 à 23 /groupe) le 8^{ème} jour de gestation et chez les rates gravides (7 à 13 / groupe) le 10^{ème} jour de gestation. Les animaux ont été sacrifiés à GD18 pour les souris, et à GD21 pour les rats. Les fœtus ont été prélevés et examinés.

Chez la souris, les résultats montrent que le BBzP et ses deux métabolites sont responsables d'une létalité chez les femelles gravides (à partir de 1120 mg/kg pour le BBzP, à 800 mg/kg pour le MnBP et à partir de 920 pour le MBzP). Une diminution du gain de poids corporel entre GD-9-18 a été observée chez les mères exposées à 1120 et 1690 mg/kg de BBzP et à 400, 800 et 1200 mg/kg de MnBP. En revanche, aucune diminution du gain de poids corporel n'a été notée chez les mères exposées au MBzP. Il est à noter qu'aucun changement sur le gain de poids corporel « corrigé » (poids corporel sans inclure le poids de l'utérus gravide) n'a été observé chez les souris gravides exposées au BBzP, MnBP et MBzP. De plus, une mortalité embryonnaire et des malformations²⁹ doses-dépendantes ont été observées chez les souris exposées au BBzP, MnBP et MBzP.

Chez le rat, une mortalité des mères a été observée après une exposition au BBzP (1690 mg/kg) et au MBzP (à partir de 920 mg/kg). Contrairement aux souris, les rats exposés aux MBzP et MnBP ne montrent pas d'effet toxique sur le développement. Des malformations fœtales (excencéphalie) ont été notées chez 5 rats exposés *in utero* à 1690 mg/kg de BBzP. Les résultats indiquent une plus grande sensibilité des souris OF1 par rapport aux rats Sprague-Dawley. Les auteurs concluent que le BBzP et ses deux principaux métabolites sont embryolétaux et tératogènes chez la souris OF1 et le rat Sprague Dawley lors d'une exposition par voie orale au début de l'organogenèse.

Les mêmes auteurs ont réalisé un essai complémentaire *in vitro* pour comparer le potentiel toxique du MnBP et du MBzP sur le développement, dans des conditions qui permettent d'éliminer l'influence du métabolisme maternel. Cet essai a été réalisé avec des embryons prélevés à GD8 pour les souris et GD10 pour les rats. Les embryons ont été mis en « culture » pendant 46 heures en présence de MBzP (rats), et de MnBP (souris et rats) à des concentrations comprises entre 0,5 et 3 mM. Les auteurs indiquent que des expériences préliminaires avaient été effectuées, en absence d'embryon pour évaluer la stabilité du BBzP dans le milieu de culture. La détermination des concentrations de BBzP dans le milieu de culture par chromatographie en phase gazeuse a montré qu'environ 71-73 % du BBzP se décomposaient en ses deux métabolites en moins de 48h. De ce fait, le potentiel embryotoxique du BBzP n'a pas été évalué *in vitro*. Après 46 heures d'incubation, les embryons ont été retirés du milieu de culture et ont été examinés (viabilité, développement morphologique). Les résultats ne montrent pas une plus grande sensibilité intrinsèque des embryons de souris à l'action toxique du MBzP et du MnBP en comparaison à celle des rats. Les auteurs concluent que la différence de toxicité observée à l'égard des rats et des souris, observée *in vivo*, est probablement due à des facteurs maternels de toxicité et/ou de cinétique.

Effets sur le développement de l'appareil reproducteur mâle

Piersma *et al.*, ont étudié les effets du BBzP sur le développement chez le rat Harlan Cpb-WU, exposé *in utero* par gavage des mères (n=10/groupe de dose), à 0, 270, 350, 450, 580, 750, 970, 1250, 1 600 et 2 100 mg/kg/j de BBzP en ciblant deux périodes d'exposition : du 6^e au 15^e jour de

²⁹ Principales malformations observées : excencéphalie, imperforation anale, queue absente ou résiduelle

gestation et du 6^e au 20^e jour de gestation (10 groupes de doses pour chaque période)³⁰ (Piersma *et al.*, 2000, RIVM 1999). Pour chaque groupe de dose, 3 femelles non accouplées, ont été exposées au BBzP pendant 10 ou 15 jours afin de les comparer avec les rates gravides. Les auteurs ont également comparé les résultats obtenus en utilisant comme point de départ soit un NOAEL soit une BMD. Les rates gravides ont été sacrifiées à GD21. Le poids corporel et la prise de nourriture ont été évalués à GD0, GD6, GD11, GD16 et GD21. Les animaux ont été sacrifiés à GD21 après le prélèvement sanguin nécessaire pour l'analyse des paramètres hématologiques et biochimique. La mesure de l'activité de la palmitoyl CoA oxydase a été utilisée comme indicateur d'une prolifération des peroxysomes. Après le sacrifice, le foie, les reins, le thymus, la thyroïde et la rate des animaux ont été pesés puis ont fait l'objet d'un examen histologique. Le nombre de corps jaunes, de sites d'implantations, de résorptions précoces ou tardives, de fœtus morts a été déterminé. Les anomalies externes des fœtus vivants ont été notées. Un examen du squelette et une analyse morphologique des fœtus ont également été effectués.

Effets chez les mères :

En raison de la toxicité du BBzP, plusieurs animaux exposés à 1 600 et 2 100 mg/kg/j sont morts ou ont été sacrifiés *in extremis* lors des 5 premiers jours suivant l'exposition. Deux animaux exposés à 1600 mg/kg/j sont morts au 10^{ème} jour. Une diminution de la prise de nourriture a été observée uniquement les 5 premiers jours à la dose de 1250 mg/kg/j. Plusieurs effets dose dépendants ont été observés chez les rates gravides :

- une diminution du poids corporel des mères dès 750 mg/kg/j (effet plus prononcé lors de l'exposition de GD6-20 ; pas d'effet dose réponse chez les femelles non gravides),
- une augmentation du poids relatif du foie à partir de 350 et 750 mg/kg/j respectivement lors des expositions de GD6-15 et GD6-20 (effet similaire chez les femelles non gravides).
- une augmentation du poids relatif des reins (à partir de 750 mg/kg/j pour les deux périodes d'exposition et à partir de 970 mg/kg/j chez les femelles non gravides)
- hématoïèse extramédullaire dans la rate (déjà présente chez les femelles gravides témoins)
- une augmentation de l'activité de la palmitoyl CoA dans le foie et une prolifération peroxysomale lors de l'examen histologique du foie à partir de 1250 mg/kg/j.

Effets sur le développement :

Une augmentation, des résorptions précoces à partir de 1600 mg/kg/j et des résorptions tardives dès 750 mg/kg/j ont été notées lors des 2 périodes d'exposition. Les auteurs ont observé des variations squelettiques (apparition d'une 13^{ème} vertèbre, à partir de 270 mg/kg/j), une diminution du poids des testicules (dès 270 mg/kg/j mais uniquement lors d'une exposition de GD6-20) et une augmentation de l'incidence des testicules non descendus chez la progéniture (à partir de 580 mg/kg/j). Une diminution du poids du testicule fœtal a été notée à partir de 450 mg/kg/j. Quelques malformations ovariennes ont été relevées à partir de 580 mg/kg/j. Des benchmark doses ont été calculées pour différents effets. Une BMD à 5 % de 171 mg/kg/j (intervalle de confiance à 95 % [145 - 206] mg/kg/j) et de 211 mg/kg/j (intervalle de confiance à 95 % de [182 à 254] mg/kg/j) ont été calculées en fonction de la durée de l'exposition (GD6-20 ou GD6-15) pour les variations squelettiques (plusieurs modèles, maximum de vraisemblance, « additional risk »). Cependant, les auteurs considèrent l'apparition d'une 13^{ème} vertèbre comme une variation mineure non néfaste. Une BMD à 1 % de 163 mg/kg/j (IC_{95%}³¹ = 95 à 280 mg/kg/j) et de 251 mg/kg/j (IC_{95%} = 153 à 433

³⁰ D'après le rapport de 1999, les groupes exposés à 0, 450, 750 et 1250 mg/kg/j comportaient 25 animaux chacun (non précisée dans la publication de Piersma *et al.*, 2000)

³¹ Intervalle de confiance à 95%

mg/kg/j) ont été proposées pour un retard de la migration testiculaire en fonction de la durée d'exposition (plusieurs modèles, maximum de vraisemblance, « additional risk »). Une BMD à 5 % de 172 mg/kg/j a été proposée pour la diminution du poids du testicule fœtal ($IC_{95\%} = 126$ à 271 mg/kg/j) uniquement lors d'une exposition de GD6-20. Cette étude permet d'identifier un LOAEL de 270 mg/kg/j pour la diminution du poids du testicule fœtal, observée dès la première dose testée. Il s'agit de l'effet foetotoxique le plus sensible observé en l'absence de toxicité maternelle.

La toxicité du BBzP pour le développement du système reproducteur lors d'expositions maternelles a été étudiée chez le rat Wistar (Ema et Miyawaki, 2002). Des rates (16/groupes) ont été exposées du 15^e au 17^e jour de gestation, (doses : 0, 250, 500 ou 1000 mg/kg/j). A partir de 500 mg/kg/j, le gain de poids des mères était significativement diminué (NOAEL = 250 mg/kg/j). A 1000 mg/kg/j, les auteurs ont observé une diminution du nombre de naissances vivantes par portée et du poids des fœtus mâles et femelles. Le nombre de mâles ayant les testicules non descendus était significativement augmenté dans les deux groupes de doses les plus élevées (respectivement 54/111 et 97/108). De plus une diminution de la distance anogénitale des mâles a été notée à partir de 500 mg/kg/j. Celle des femelles reste inchangée dans tous les groupes de doses.

Les effets du MBzP, métabolite principal du BBzP chez l'Homme sur le système reproducteur mâle pendant l'embryogenèse ont été testés chez la rate Wistar (Ema *et al.*, 2003). Les rates gravides étaient exposées par gavage à 0, 167, 250 et 375 mg/kg/j du 15^e au 17^e jour de gestation. Les fœtus étaient examinés le 21^e jour de gestation. Le gain de poids maternel et la consommation alimentaire de la mère était significativement réduit à partir de la première dose (LOAEL=167 mg de MBzP/kg/j ; pas de NOAEL). Une augmentation significative de l'incidence des testicules non descendus et une réduction de la distance anogénitale apparaissaient à partir de la deuxième dose (NOAEL = 167 mgMBzP/kg/j ; LOAEL = 250 mgMBzP/kg/j). La distance anogénitale des femelles restait inchangée dans tous les groupes de dose comparés au groupe témoin.

Les effets de 5 phtalates, dont le BBzP, sur la différenciation masculine chez le rat Sprague-Dawley ont été étudiés par Howdeshell *et al.* (2008). Après exposition des mères pendant la gestation (jour 8 à 18) individuellement au BBzP, DnBP, DEHP, DEP, DiBP, DPP, le niveau de testostérone testiculaire est mesuré chez les fœtus mâles. La dose efficace provoquant une inhibition de 50 % de la production de testostérone (ED50) est équivalente pour le BBzP, le DnBP, le DEHP et le DiBP (ED50 de 440 ± 16 mg/kg/j). Le DPP est trois fois plus efficace (ED50% = 130 mg/kg/j) et le DEP n'avait aucun effet sur la production de testostérone fœtale. Les auteurs ont testé l'hypothèse d'une simple additivité des effets lors d'une coadministration des phtalates. Dans une deuxième étude, les mères ont été exposées à 100, 80, 60, 40, 20, 10, 5, ou 0 % du mélange. La dose supérieure est de 1300 mg de phtalates totaux/kg/j incluant BBzP+DnBP+DEHP+DiBP (300 mg/kg/j par phtalate) et DPP (100 mg DPP/kg/j). Cette proportion de mélange a été choisie de façon à ce que chaque phtalate contribuerait également à la réduction de la testostérone. Comme prévu par l'hypothèse de départ, la production de testostérone a été réduite de façon additive. Plusieurs phtalates individuels et le mélange ont aussi engendré une mortalité fœtale.

Une étude de Rider *et al.* (2009) avait pour objectif d'évaluer les effets cumulatifs de certaines substances «anti androgéniques» sur les organes de la reproduction chez le rat Sprague-Dawley. Les animaux ont été exposés pendant la grossesse à des anti-androgènes seuls ou en paires à des doses équivalentes correspondant environ à la moitié de la dose efficace 50% (DE50), qui provoque l'hypospadias ou l'agénésie épидидymaire. Les paires de substances sont les suivantes : antagonistes du récepteur AR (vinclozoline, plus procymidone), esters de phtalate (di-butyl-phtalate DBP et DEHP, plus BBzP, plus DnBP), un ester de phtalate et un antagoniste des AR (DBP, plus procymidone), ainsi que linuron et BBzP. Chacun des produits chimiques, seul, devait induire quelques rares malformations. Toutefois, en mélangeant les produits chimiques par deux, environ 50% des rats mâles nouveau-nés avaient des malformations. Toutes les combinaisons binaires ont produit des effets cumulatifs, et dose-additifs, sur les tissus androgéno-dépendants.

Un autre essai a porté sur le mélange des 7 substances. Les effets du mélange complexe montrent que celui-ci s'est comporté aussi d'une manière dose-additive.

Certaines études ont démontré qu'une exposition *in utero* à de fortes doses d'un phtalate altère les cellules de Leydig du rat.

Ainsi, une inhibition de la sécrétion de testostérone et une diminution de l'expression de l'InsL3 (relaxin/insulin like 3) ont été mises en évidence chez des fœtus de rat mâle à GD18 (exposition courte à une dose unique par voie orale de 1g/kg/j de GD14-GD18) (Wilson *et al.*, 2004). En outre, chez le rat mâle, une exposition au BBzP (100-900 mg/kg/j du 8^{ème} au 18^{ème} jour de gestation, induit une inhibition de la production de testostérone fœtale (Howdeshell *et al.*, 2008).

Les conséquences d'une inhibition de la synthèse de testostérone fœtale ont été clairement identifiées. Ainsi différents défauts de masculinisation sont décrits : une diminution de la distance anogénitale, la rétention d'aréoles mammaires ou de mamelons chez le mâle, la diminution de la longueur du pénis, une baisse du poids de la prostate, une augmentation des hypospadias et du taux de cryptorchidie (Inserm, 2011).

L'InsL3 est une hormone qui permet entre autres la croissance du gubernaculum, un ligament responsable de la descente des testicules. Il semble donc logique d'attribuer, au moins en partie, la cryptorchidie induite par une exposition *in utero* aux phtalates à l'inhibition de la sécrétion de cette hormone leydigienne.

Etude sur le développement de la glande mammaire

Une étude récente s'est intéressée à l'action de l'exposition du BBzP *in utero*, sur les modifications des glandes mammaires des rats Sprague Dawley, ainsi que sur l'expression de leur profil génique (Moral *et al.*, 2011). Les rates ont été exposées par gavage à 120 mg ou 500 mg/kg/j à partir du 10^{ème} jour de la conception, et jusqu'à la délivrance. Les rates femelles nouveau-nées ont été euthanasiées à 21, 35, 50 et 100 jours. La morphologie et l'index prolifératif des glandes mammaires ont été étudiés. Les résultats montrent une ouverture vaginale retardée et des changements de la glande mammaire post-natale longtemps après la fin du traitement, principalement après l'âge de 35 jours. L'exposition à la dose la plus élevée a entraîné des modifications de l'architecture et de l'indice prolifératif de la glande mammaire, affectant surtout les bourgeons des extrémités terminales indifférenciés. De plus, les profils d'expression de cette glande chez les rates exposées ont été modifiés de façon dose-dépendante. L'analyse des catégories fonctionnelles a montré que les gènes modifiés étaient liés à la fonction immunitaire, la signalisation cellulaire, la prolifération et la différenciation, ou le métabolisme. En conclusion, les auteurs indiquent que les résultats montrent que l'exposition *in utero* au BBzP induit une apparition tardive de la puberté et une modification de la morphologie de la glande mammaire, et que ces altérations sont accompagnées par des modifications de l'expression des gènes précédemment associés à une susceptibilité accrue à la cancérogenèse. A noter que, les effets observés chez les mères ne sont pas rapportés dans cette étude.

Tableau 12 : Synthèse des études sur les effets du BBzP sur le développement embryonnaire

Espèce, voie, niveaux d'exposition, et durée.	Dose critique	Effets	Référence
Rates Sprague Dawley, nourriture, MnBP, 0, 420, 1100, 1640 mg/kg/j, GD6-15	NOAEL maternel et foetal = 420 mg/kg/j	A 1100 mg/kg/j Réduction de gain de poids corporel et augmentation du poids du foie chez les mères Augmentation de l'incidence des variations	Field 1989
Souris CD-1, nourriture, MnBP, 0, 182, 910, 2330 mg/kg/j, GD6-15	NOAEL maternel et foetal = 182 mg/kg/j	A 910 mg/kg/j : Réduction de gain de poids corporel des mères Mortalité prénatale et malformations foetales	Price (1990 cité par NTP-CERHR 2003)
Rates Wistar, Gavage, BBzP, 0, 500, 750, 1000 mg/kg/j, GD7-15	NOAEL maternel et foetal = 500 mg/kg/j	A 750 mg/kg/j : Réduction de gain de poids corporel des mères Résorption foetale, baisse du poids et malformations des fœtus	Ema <i>et al.</i> , 1992a
Rates Wistar gravides et pseudo gravides, intubation gastrique, BBzP, 0, 250, 500, 750, et 1000 mg/kg/j, GD0-8	LOAEL maternel = 250 mg/kg/j NOAEL foetal = 250 mg/kg/j	Baisse du gain de poids corporel maternel. Baisse du poids foetal et du nombre d'implantations foetales. Baisse du poids de l'utérus et des niveaux de progestérone sériques chez les pseudos gravides.	Ema <i>et al.</i> , 1998
Rates gravides Harlan Cpb-WU, gavage, BBzP, 0, 270, 350, 450, 580, 750, 970, 1250, 1 600, et 2 100 mg/kg/j GD6-20	BMD 5 % = 318 mg/kg/j	Augmentation du poids relatif du foie	Piersma <i>et al.</i> , 2000 – RIVM 1999
	BMD1% = 163 mg/kg/j	Cas de non migration des testicules	
	BMD1% = 172 mg/kg/j	Poids du testicule foetal	
Rates Wistar gravides, gavage, BBzP, 0, 250, 500, 750 et 1000 mg/kg/j	NOAEL maternel = 250 mg/kg/j NOAEL foetal = 250 mg/kg/j	Toxicité maternelle : diminution du gain de poids corporel. Pas d'effet sur le gain de poids ajusté. Diminution du nombre de foetus vivant par portée et diminution du poids foetal à 1000 mg/kg/j. Diminution de la distance anogénitale chez les fœtus mâles et augmentation de l'incidence des testicules non descendus à la dose de 500 mg/kg/j	Ema et Miyawaki, 2002

Rates Wistar gravides, MnBP, intubation gastrique, 0, 250, 500, et 625 mg/kg/j, GD7-15	NOAEL maternel et foetal = de 250 mg/kg/j.	Baisse de consommation alimentaire et du gain de poids corporel Augmentation de cas de résorptions, malformations, et de morts foetales, et de pertes post-implantatoires.	Ema <i>et al.</i> , 1995
Rates Wistar gravides, MBzP, intubation gastrique, 0, 250, 313, 375, 438, et 500 mg/kg/j, GD7-15	LOAEL maternel = 250 mg/kg/j. NOAEL foetal = 250 mg/kg/j.	Baisse de consommation alimentaire et du gain de poids corporel Malformations foetales	Ema <i>et al.</i> , 1996a
Rates Wistar gravides, MBzP, intubation gastrique, 0, 250, 375, 500, et 625 mg/kg/j, GD7-9 ; GD10-12 ; et GD13-15	Variable selon période d'exposition.	Augmentation de cas de pertes post-implantatoires à partir de 500 mg/kg/j pour les 3 périodes d'exposition. Dès 375 mg/kg/j, augmentation des effets tératogènes pour GD7-9 et GD13-15, mais pas pour GD10-12.	Ema <i>et al.</i> , 1996b
Rats Sprague-Dawley, VO, dose unique à j10 ; et souris OF1, VO, dose unique à GD8. BBzP à 0, 280, 560, 1 120, 1 690 mg/kg. MnBP 0, 200, 400, 800, 1200 mg/kg. MBzP à 0, 230, 460, 920, 1 380 mg/kg.	Pas de NOAEL	Souris : embryotoxicité dose-dépendante du BBzP, MnBP, et du MBzP. Rats : embryotoxicité du BBzP, mais pas du MnBP et du MBzP.	Saillenfait <i>et al.</i> 2003

Résumé des données sur la toxicité du BBzP sur la reproduction

En conclusion, les études chez le rat exposé par voie orale au BBzP indiquent des effets toxiques sur la reproduction mâle incluant notamment des lésions des organes reproducteurs, une diminution de la réserve spermatique et une baisse de la fertilité. Ces effets sont généralement observés à des doses supérieures ou égales à 500 mg/kg/j à l'exception de l'étude de 10 semaines du NTP (1997). En effet, dans cette étude, une diminution de la réserve spermatique épидидymaire est observée dès la dose de 200 mg/kg/j (chez les mâles F0). Elle n'est associée à aucune modification histopathologique et la fertilité n'est pas altérée à ce niveau de dose. En revanche, à la dose supérieure (2200 mg/kg/j) des lésions testiculaires et épидидymaires, une diminution de la réserve spermatique et une atteinte de la fertilité ont été mis en évidence.

Plusieurs études montrent que le BBzP et ses deux principaux métabolites (le MnBP et le MBzP) induisent des effets embryotoxiques et tératogènes chez le rat et la souris. L'incidence de ces effets varie en fonction de la dose et du stade de développement. Les valeurs de NOAEL recensées pour la toxicité foetale pour des expositions par voie orale avant le 15^{ème} jour de gestation, chez le rat et chez la souris, varient de 182 à 500 mg/kg/j (la valeur la plus basse est celle déterminée à partir de l'étude de Price (1990 cité par NTP-CERHR 2003) chez des souris CD-1).

Les effets les plus sensibles observés sur l'appareil reproducteur mâle en lien avec une activité anti-androgénique du BBzP ont été mis en évidence dans plusieurs études récentes couvrant la période de différenciation sexuelle chez le rat. Dans une étude où la durée d'exposition des femelles gravides s'étend du 6^{ème} au 20^{ème} jour de gestation, une BMD 1% de 163 mg/kg/j a été déterminée pour un retard de la migration testiculaire et une BMD 5% de 172 mg/kg/j pour une diminution du poids relatif du testicule (Piersma *et al.*, 2000). L'étude multigénérationnelle de Tyl *et*

al., 2004 permet de mettre en évidence un NOAEL de 50 mg/kg/j (NOAEL le plus bas) sur la base d'une diminution de la distance anogénitale chez les descendants mâles observée à 250 mg/kg/j. Ce dernier signe également une altération du développement de l'appareil reproducteur mâle *via* l'activité anti-androgénique de cette substance. Cependant, les conditions d'exposition de cette étude ne sont pas pertinentes pour l'élaboration d'une VLEP.

4.3 Cohérence animal-Homme

Les données sur le métabolisme du BBzP après exposition par voie orale, montrent une différence entre l'Homme et les rongeurs. Ainsi, chez l'Homme, le BBzP est métabolisé majoritairement en MBzP et en plus faible proportion en MnBP, alors que chez le rat, les données montrent que les proportions des deux métabolites sont inversées.

L'ensemble des données disponibles chez l'Homme ne permettent pas d'établir une relation dose-réponse entre les niveaux d'exposition spécifique au BBzP, et les différentes manifestations de la reprotoxicité.

De nombreuses études expérimentales menées essentiellement chez le rat et la souris exposés par voie orale ont été identifiées dans la littérature.

Le BBzP peut induire une prolifération des peroxyosomes au niveau hépatique chez le rat et la souris, qui se traduit par des modifications structurales après observation au microscope électronique et des changements dans les activités enzymatiques associées aux peroxyosomes. Il a été suggéré une relation entre la prolifération des peroxyosomes et la survenue de tumeurs hépatiques chez les rongeurs (Laspinkas, 2005). Toutefois les résultats des études de cancérogenèse chez l'animal ne semblent pas aller dans le sens de ce mécanisme d'action

Chez l'animal, après une exposition de mâles à l'âge adulte, des lésions des organes de l'appareil reproducteur mâle sont observées, ainsi qu'une diminution de la fertilité mâle consécutive probablement à ces effets. Aucune étude mettant en évidence un lien entre une exposition au BBzP de femelles adultes non gestantes et des effets sur le système reproducteur n'a été identifiée.

Les données de toxicité comparée sur le développement embryonnaire, chez les rongeurs, entre le BBzP et ses deux principaux métabolites (MBzP et MnBP), montrent que les 3 substances induisent à la fois une toxicité maternelle et une toxicité sur le développement des embryons, mais le niveau de cette toxicité semble espèce-dépendante. Cette différence de toxicité serait probablement due à des facteurs maternels de toxicité et/ou de cinétique propres à chacune des espèces animales utilisées. Par ailleurs, certains de ces effets embryotoxiques sont plus susceptibles de se produire à certains stades du développement embryonnaire qu'à d'autres. Ces données suggèrent que les deux métabolites (MBzP et MnBP) peuvent contribuer aux effets toxiques observés suite à une exposition au BBzP.

Après une exposition *in utero* chez le rat, le développement de l'appareil reproducteur mâle et la différenciation sexuelle mâle sont affectés lors d'études par voie orale. Les effets observés chez les descendants mâles (exposés *in utero*) sont attribués à une activité antiandrogénique qui serait due à une inhibition de la production de testostérone et de l'InsL3. .

En comparaison de la littérature abondante chez le rat, très peu d'études ont abordé les effets des phtalates *in utero* chez d'autres modèles animaux. La question de savoir si les rongeurs sont de bons modèles pour l'étude des effets chez l'Homme se pose. En effet, il existe des différences de métabolisme et de physiologie à prendre en compte (Inserm, 2011). En l'absence de données définitives prouvant le contraire, les données issues d'études chez les rongeurs sont utilisées.

5 Construction des VLEP et recommandations

5.1 Construction de la VLEP-8h

5.1.1 Choix de l'effet critique et étude(s) correspondante(s)

Pour pouvoir construire la VLEP du BBzP, une analyse complète des données toxicologiques et des relations doses-effets issues d'une bibliographie étendue a été effectuée. Un effort particulier pour documenter et classer les différents effets sanitaires du BBzP à partir principalement de données animales (les études épidémiologiques étant quasi inexistantes) a permis de retenir comme effet critique la toxicité sur la reproduction.

La notion d'effets toxiques sur la reproduction a été considérée dans le sens de l'annexe VI de la Directive 69/548/CEE modifiée (28^{ème} ATP : directive 2001/59/CE)³²; il s'agit des effets néfastes (ou nocifs) qui comprennent les altérations des fonctions ou de la capacité de reproduction chez l'homme ou chez la femme ainsi que les effets néfastes non héréditaires sur la descendance. Plus précisément, il s'agit, pour les effets sur la fertilité masculine et féminine : des effets néfastes sur la libido, sur le comportement sexuel, sur les différents aspects de la spermatogenèse ou de l'ovogenèse, sur l'activité hormonale ou sur la réponse physiologique qui perturberait la capacité de fécondation, sur la fécondation et sur le développement de l'ovule fécondé jusqu'à l'implantation.

Les études montrant un effet toxique sur la reproduction chez des animaux mâles ou femelles ou leur descendance ont été sélectionnées. Les études ont été retenues selon les critères suivants :

- cohérence animal/homme de l'effet considéré ;
- sensibilité de l'effet, seules les études objectivant la plus basse dose repère (NOAEL ou LOAEL) ont été retenues ;
- plausibilité du scénario d'exposition au regard de l'exposition professionnelle ;
- qualité de l'étude.

Les résultats des études expérimentales montrent que les effets les plus sensibles sont observés sur l'appareil reproducteur mâle en lien avec une activité anti-androgénique du BBzP. Plusieurs études indiquent que l'exposition *in utero* correspond à la période la plus sensible pour ces effets. Toutefois les données disponibles notamment le NOAEL le plus bas identifié dans l'étude multigénérationnelle³³ de Tyl *et al.* (2000) ne peuvent pas être utilisées pour la construction d'une VLEP.

L'effet critique retenu parmi l'ensemble des effets observés sur l'appareil reproducteur mâle est l'altération des organes reproducteurs et de la fertilité à partir de l'étude de 10 semaines du NTP (1997). Il s'agit de l'étude la plus robuste pour construire une VLEP.

En effet cette étude a été menée sur une population de rats adultes au sein de laquelle un effet critique transposable au travailleur a été identifié. Par ailleurs, l'étude est de bonne qualité et la gamme de dose choisie est suffisamment étendue pour que la dose repère trouvée soit cohérente. Par ailleurs le fait que cette dose repère soit un NOAEL plutôt qu'un LOAEL donne encore plus de validité à l'étude. De plus, l'importante différence entre le NOAEL et le LOAEL est également un élément de sécurité. Enfin, le choix de cet effet et de cette étude est conforté par le fait que les

³² A noter que cette directive a été abrogée par le Règlement CE N° 1272/2008 relatif à la classification et à l'emballage des substances et des mélanges

³³ Les conditions d'exposition de cette étude ne sont pas pertinentes pour l'élaboration d'une VLEP.

valeurs de la plupart des NOAELs déterminés par voie orale chez le rongeur se situent autour de 200 mg/kg/j, et ce aussi bien pour la toxicité générale que pour la reprotoxicité.

Dans cette étude, des rats F344 mâles (15 rats/groupe, âgés de 6 semaines au début de l'exposition), ont été exposés *via* l'alimentation au BBzP à des doses de 0, 20, 200 et 2200 mg/kg/j pendant 10 semaines. Cette étude permet d'identifier un NOAEL³⁴ de 200 mg/jkg/j sur la base des effets sur les testicules (lésions, poids), l'épididyme (lésions), la prostate (poids), la réserve spermatique et l'atteinte de la fertilité observés à 2200 mg/kg/j.

Les avantages et les limites de cette étude sont :

Avantages :

- L'effet critique est conforme à la classification du BBzP (l'appareil reproducteur mâle est l'organe cible principal) ;
- Les effets sur l'appareil reproducteur mâle observés à 2200 mg/kg/j sont comparables à ceux de l'étude de 26 semaines. De plus, l'atteinte de l'appareil reproducteur mâle et/ou de la fertilité ont été mis en évidence dans d'autres études ;
- Le POD est un NOAEL.

Limites :

- Les différences de métabolisme entre le rat et l'humain ;
- Les animaux ont été exposés par voie orale (*via* l'alimentation) alors que la voie d'exposition prépondérante des travailleurs à cette substance est l'inhalation ;
- Rats âgés de 6 semaines au début de l'exposition ;
- La durée d'exposition de 10 semaines peut sembler courte au regard de l'exposition à long terme du travailleur ;
- Ecart important entre les doses (20, 200 et 2200 mg/kg/j) entraînant un écart important entre le NOAEL et le LOAEL.

Extrapolation voie à voie

Chez les rongeurs, l'absorption gastro-intestinale du BBzP est proche de 100% (Inserm, 2011). En l'absence de donnée, il est considéré par défaut que l'absorption par inhalation chez le rongeur est de 100%. En l'absence d'autre données, le CES considère par défaut que ces pourcentages d'absorption sont les mêmes chez l'Homme. Selon ECHA (2012), le volume respiratoire d'un rat pour une exposition de 8h (exprimé par kilogramme de poids corporel) est de 0,38 m³.kg⁻¹. Il correspond au volume respiratoire « standard » de 6,7 m³ chez un homme de 70 kg. Pour rappel, le volume respiratoire d'un travailleur est estimé à 10 m³.

On obtient :

$$NOEL_{\text{inhalé}} \text{ estimé } (mg.m^{-3}) = NOEL_{\text{voie orale rat}} \times \frac{1}{0,38} \times \frac{100}{100} \times \frac{6,7}{10}$$

L'application de ce calcul aux données issues de l'étude de 10 semaines du NTP conduit à un NOAEL équivalent, chez l'Homme, par inhalation de **352,6 mg.m⁻³**.

³⁴ Dans la mesure où l'effet significatif n'a été observé qu'avec une seule dose, il n'a pas été possible de calculer une BMD.

5.1.2 Choix des facteurs d'ajustement

Il est proposé d'appliquer les facteurs d'ajustement suivants :

- FA_A (variabilité inter-espèces) : 3 justifié par l'ajustement allométrique qui permet de s'affranchir de la composante cinétique. L'Inserm sur la base d'une revue complète de la littérature conclut que l'on ne dispose pas de données suffisantes pour affirmer que l'Homme est plus sensible que le rat ou l'inverse.
- FA_H (variabilité inter-individuelle) : 3. En l'absence de données quantifiées sur la variabilité inter-individuelle, la valeur de 3 est attribuée par défaut à ce facteur afin de tenir compte de la variabilité au sein de la population des travailleurs.
- FAs (différences de durée d'exposition : transposition d'une exposition subchronique à chronique) : 3

Bien que la voie d'exposition ne soit pas la plus adaptée pour la construction de VLEP, l'application d'un facteur d'ajustement pour l'extrapolation voie à voie n'est pas nécessaire, en effet:

- s'agissant d'un effet systémique, les calculs ont été effectués selon un scénario qui considère que l'absorption par voie orale aussi bien que par inhalation est égale à 100%
- le NOAEL a été recalculé pour être adapté au volume pulmonaire du rat et sur la durée de travail du travailleur.
- Aucun effet spécifique propre à une voie d'exposition n'a été identifié.

5.1.3 Valeur de la VLEP-8h

Effet critique	Dose critique	FA	VLEP-8h
Altération des organes reproducteurs et de la fertilité (NTP, 1997)	NOAEL = 200 mg/kg/j <u>Extrapolation voie à voie</u> NOAEL _{HECinhalé} = 352,6 mg.m ⁻³	27 FA _A 3 FA _H 3 FA _S 3	13 mg.m ⁻³

La VLEP-8h proposée est de 13 mg.m⁻³. Cette valeur vise à protéger des effets sur l'appareil reproducteur mâle en lien avec une activité anti-androgénique du BBzP (notamment l'altération des organes reproducteurs et de la fertilité) et du MBzP (métabolite principal chez l'homme). Par ailleurs cette valeur est également protectrice pour l'ensemble des autres effets sur la population générale des travailleurs.

5.2 Construction de la VLCT-15 min

Chez l'Homme, il n'existe pas de donnée sur les effets liés à des expositions aiguës. Chez l'animal, les données d'exposition aiguë ne sont pas pertinentes pour la construction d'une VLCT-15 min (exposition par voie orale et voie cutanée).

Ainsi afin de limiter l'importance et le nombre de pics d'exposition et conformément à sa méthodologie (Afsset, 2009), le CES recommande de ne pas dépasser sur 15 minutes la valeur de 5 fois la VLEP-8h lors de toute exposition professionnelle au BBzP soit 65 mg.m⁻³.

5.3 Mention « peau »

Aucune donnée quantitative de pénétration cutanée du BBzP chez l'homme n'a été retrouvée dans la littérature.

A défaut de données chez l'homme, des données expérimentales ont été considérées.

A partir des données de l'étude *in vivo* chez le rat d'Elsisi *et al.* (1989) en première approximation, un flux de perméation cutanée (J) peut être estimé à partir des éléments suivants :

- une dose déposée de 5 à 8 mg.cm⁻² (la dose n'est pas strictement connue) ;
- un pourcentage de la dose excrétée en 7 jours de 30 % (chiffre dans le texte et valeur de la figure 1 dans la publication d'Elsisi *et al.* 1989) ;
- un pourcentage de la dose dans les muscles et graisses de 4,6% et de 0,17% (tableau 1 dans la publication d'Elsisi *et al.* 1989)

Le flux (J) estimé à partir de ces données correspond à :

- $J = 5 \text{ à } 8 \text{ mg.cm}^{-2} \times (30\% + 4,6\% + 0,17\%) / (100 \times 7 \text{ j} \times 24 \text{ h} \times 60 \text{ min})$
- $J = 0,2 \text{ à } 0,3 \text{ } \mu\text{g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$ soit 12 à 18 $\mu\text{g.cm}^{-2}.\text{h}^{-1}$

Le flux ainsi calculé correspond aux valeurs de 0,15 à 0,30 $\mu\text{g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$ rapportées par la Commission européenne (EC, 2007).

La quantité absorbée, pour une exposition à une concentration équivalente à la VLEP-8h sur une période de travail de 8h, en considérant une absorption par inhalation de 100% (comme utilisé pour l'extrapolation voie à voie) et un volume d'air inspiré de 10 m³ correspond à :

$$- 13 \text{ (mg.m}^{-3}\text{)} \times 10 \text{ (m}^3\text{)} = 130 \text{ mg}$$

La quantité absorbée après exposition des mains et des avant-bras (2000 cm²) pendant 1 heure correspond à :

$$- 18 \times 10^{-3} \text{ (mg.cm}^{-2}\text{.h}^{-1}\text{)} \times 2000 \text{ (cm}^2\text{)} = 36 \text{ mg}$$

Conformément au document méthodologique du CES, les critères de l'ECETOC³⁵ sont appliqués pour déterminer un apport relatif par la voie cutanée par rapport à l'inhalation.

La quantité de composé absorbé après exposition des mains et des avant-bras (2000 cm²) pendant 1h doit contribuer à plus de 10 % de la dose systémique absorbée par inhalation sur 1 journée de travail de 8h à la VLEP-8h (ECETOC, 1993).

La dose absorbée par la voie cutanée correspondrait ainsi à 28 % de la dose absorbée par inhalation.

Il faut cependant noter une limite à ce résultat. En effet, ce pourcentage d'absorption a été extrapolé à partir des données expérimentales chez l'animal. Or il est connu que la pénétration cutanée des phtalates est espèce-dépendante car influencée par l'activité esterasique potentiellement différente entre l'animal et l'Homme (Payan et al., 2001 ; Hopf et al., 2014).

Pour d'autres phtalates, comme le DBP notamment, le flux d'absorption cutanée calculé à partir de données *in vitro* chez l'animal peut être très largement supérieur à celui calculé chez l'Homme ; de 40 fois supérieur (Beydon et al., 2010; Scott et al., 1989).

Pour le DEHP, en revanche, il a été calculé que le flux d'absorption cutanée obtenu à partir de donnée *in vitro* chez l'animal était seulement 4 fois supérieur à celui calculé chez l'Homme (Barber et al., 1992; Scott et al., 1989).

Au vu des extrapolations réalisées à partir de résultats obtenus pour d'autres phtalates, le passage cutané pourrait être plus faible chez l'Homme que l'étude d'Elsisi le suggère. Il est cependant possible que la voie cutanée puisse contribuer à plus de 10% de la charge systémique. Par conséquent, le CES VLEP recommande l'attribution de la mention peau pour cette substance.

³⁵ European Center for Ecotoxicology and Toxicology for Chemicals

6 Conclusions

VLEP-8h : 13 mg.m⁻³

Pas de VLCT-15min proposée.

Mais il est recommandé de ne pas dépasser sur 15 minutes une VLCT-15min pragmatique de 65 mg.m⁻³ correspondant à 5 fois la VLEP-8h recommandée.

Mention « peau » : oui

7 Bibliographie

- Afsset. 2009. Recommandations en vue de limiter l'importance et le nombre de pics d'exposition dans une journée de travail (partie 1). (Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail: Maisons-Alfort, France). 107 p.
- Anses. 2014. Valeurs limites d'exposition en milieu professionnel – Document de référence. (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, France). 122 p.
- Agarwal DK, Maronpot RR, Lamb J, IV, Kluwe WM. 1985. Adverse effects of butyl benzyl phthalate on the reproductive and hematopoietic systems of male rats. *Toxicology*; 35: 189- 206.
- Anderson WAR, Castle L, Scotter M and Springall C. 2001. A biomarker approach to measuring human dietary exposure to certain phthalate diesters. *Food Addit Contam*; 18: 1068-1074.
- Aschengrau A, Coogan PF, Quinn MM, Cashins LJ. 1998. Occupational Exposure to estrogenic chemicals and the occurrence of breast cancer : an exploratory analysis. *American Journal of Industrial Medicine*; 34: 6-14.
- Ashby J, Tinwell H, Lefevre PA, Odum J, Paton D, Millward SW, Tittensor S, Brooks AN. 1997. Normal sexual development of rats exposed to butylbenzyl phthalate from conception to weaning. *Regul Toxicol Pharmacol*; 56: 102-118.
- Duty SM, Silva MJ, Barr DB, Brock JW, Ryan L, Chen Z, Herrick RF, Christiani DC, Hauser R. 2003. Phtalate exposure and human semen parameters. *Epidemiology*; 14(3): 269-277.
- Duty SM, Calafat AM, Silva MJ, Brock JW, Ryan L, Chen Z, Overstreet J, Hauser R. 2004. The relationship between environmental exposure to phthalates and computer-aided sperm analysis motion parameters. *J Androl*; 25(2): 293-302.
- EC. 2007. European Union Risk assessment report. Benzyl Butyl Phtalate, volume 76. (European Commission, Luxembourg). 274 p.
- ECETOC. 1993. Technical document N° 31 (Revised), Strategy for assigning a "skin notation" (European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals: Brussels, Belgium). 12 p.
- ECHA. 2012. Guidance on information requirements and chemical safety assessment chapter 8: 27 characterisation of dose [concentration]-response for human health. (European Chemicals Agency, Helsinki). 186 p.
- Eigenberg DA, Bosigian HP, Carter DE, et Sipes IG. 1986. Distribution, excretion, and metabolism of butylbenzyl phthalate in the rat. *JToxicol Environ Health*; 17(4): 445-456.
- Elsisi AE, Carter DE, Sipes IG. 1989. Dermal absorption of phthalate diesters in rats. *Fundam Appl Toxicol*; 12(1):70-77.
- Ema M, Kurosaka R, Amano H, Ogawa Y. 1995. Developmental toxicity evaluation of mono-n-butyl phtHalate in rats. *Toxicol Lett*; 78: 101-106.
- Ema M, Harazono A, Miyawaki E, Ogawa Y. 1996a. Developmental toxicity of mono-n-benzyl phtalate, one of the major metabolites of the plasticizer n-butyl benzyl phthalate, in rats. *Toxicol Lett*; 86: 19-25.
- Ema M, Kurosaka R, Harazono A, Amano H, Ogawa Y. 1996b. Phase specificity of developmental toxicity after oral administration of mono-n-butyl phthalate in rats. *Arch Environ Contam Toxicol*; 31: 170-176.
- Ema M, Miyawaki E, Kawashima K. 1998. Reproductive effects of butyl benzyl phthalate in pregnant and pseudopregnant rats. *Reprod Toxicol*; 12(2): 127-132.

- Ema M, Miyawaki E. 2002. Effects on development of the reproductive system in male offspring of rats given butyl benzyl phthalate during late pregnancy. *Reprod Toxicol*; 16(1): 71-76.
- Ema M, Miyawaki E, Hirose A, Kamata E. 2003. Decreased anogenital distance and increased incidence of undescended testes in fetuses of rats given monobenzyl phthalate, a major metabolite of butyl benzyl phthalate. *Reprod Toxicol*; 17(4): 407-412.
- Hammond BG, Levinskas GL, Robinson EC and Johannsen FR. 1987. A review of the subchronic toxicity of butyl benzyl phthalate. *Toxicol Ind Health*; 3: 79-98.
- 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): 682-691.
- Hauser R, Meeker JD, Singh NP, Silva MJ, Ryan L, Duty S, Calfat AM. 2007. DNA damage in human sperm is related to urinary levels of phthalate monoester and oxidative metabolites. *Hum Reprod*; 22(3): 688-695.
- Hopf NB, Berthet A, Vernez D, Langard E, Spring P, Gaudin R. 2014. Skin permeation and metabolism of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP). *Toxicol Lett*; 224: 47-53.
- Howdeshell KL, Wilson VS, Furr J, Lambright CR, Rider CV, Blystone CR, Hotchkiss AK, et Gray LE. 2008. A mixture of five phthalates esters inhibits fetal testicular testosterone production in the Sprague-Dawley rat in a cumulative, dose additive manner. *Toxicological Sciences*; 105 (1): 153-165.
- Huang PC, Kuo PL, Guo YL, Liao PC, Lee CC. 2007. Associations between urinary phthalate monoesters and thyroid hormones in pregnant women. *Hum Reprod*; 22(10): 2715-2722.
- Huang PC, Kuo PL, Chou YY, Lin SJ, Lee CC. 2009. Association between prenatal exposure to phthalates and the health of newborns. *Environ Int*; 35(1):14-20.
- IARC. 1999. IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Butyl Benzyl Phthalate, Volume 73. (International Agency for Research on Cancer, France). 115 p.
- Inserm. 2011. Phthalates dans 'Reproduction et environnement. Expertise collective'. (Institut national de la santé et de la recherche médicale, France). 711 p.
- 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.
- Kavlock R, Boekelheide K, Chapin R, et al. 2002. NTP Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction: phthalates expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of butyl benzyl phthalate. *Reprod Toxicol*; 16(5): 453-487.
- Lapinskas PJ, Brown S, Leesnitzer LM, et al. 2005. Role of PPARalpha in mediating the effects of phthalates and metabolites in the liver. *Toxicology* 207(1); 149-163.
- Milkov LE, Aldyreva MV, Popova TB, et al. 1973. Health status of workers exposed to phthalate plasticizers in the manufacture of artificial leather and films based on PVC resins. *Environ. Health Perspect*; 3: 175-178.
- Moral R, Santucci-Pereira J, Wang R, et al. 2011. In utero exposure to butyl benzyl phthalate induces modifications in the morphology and the gene expression profile of the mammary gland: an experimental study in rats. *Environmental Health*; 10(1):5.
- Nagao T, Ohta R, Marumo H, Shindo T, Yoshimura S, Ono H. 2000. Effect of butyl benzyl phthalate in Sprague-Dawley rats after gavage administration: a two-generation reproductive study. *Reprod Toxicol*; 14(6): 513-532.
- Nativelle C, Picard K, Valentin I, Lhugenot JC, Chagnon MC. 1999. Metabolism of n-butyl benzyl phthalate in the female Wistar rat. Identification of new metabolites. *Food Chem Toxicol*; 37: 905-917.

- NTP. 1982. NTP-80-25. Carcinogenesis bioassay of butyl benzyl phthalate in F344/N rats and B6C3F1 mice (feed study). NIH Publication No. 82-1769. Technical Report serie no. 213. (National Toxicology Program, USA). 98 p.
- NTP. 1997. Toxicology and carcinogenesis studies of butyl benzyl phthalate in F344/N rats (feed studies). Report No. 458, NIH publication No. 97-3374. (National Toxicology Program, USA). 195 p.
- NTP-CERHR. 2003. Monograph on the potential human reproductive and developmental effects of butyl benzyl phthalate (BBP). Report No.: NIH publication n°03-4487. (National Toxicology Program Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction, USA). 163 p.
- Nielsen J, Aakesson B and Skerfving S. 1985. Phthalate ester exposure – Air levels and health of workers processing polyvinylchloride. *Am Ind Hyg Assoc J*; 46: 643-647.
- Payan JP, Marty JP, Fabry JP, et al. 2001. In vivo and in vitro percutaneous absorption of [¹⁴C] di-n-butylphthalate in rat. *American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*; 29 (6): 843-854.
- Piersma AH, Verhoef A, Dortant PM. 1995. Evaluation of the OECD 421 reproductive toxicity screening test protocol using butyl benzyl phthalate. *Toxicology*; 99: 191-197.
- Piersma AH, Verhoef A, te Biesebeek JD, Pieters MN, Slob W. 2000. Developmental toxicity of butyl benzyl phthalate in the rat using a multiple dose study design. *Reprod Toxicol*; 14(5): 417-425.
- Rider CV, Wilson VS, Howdeshell KL, et al. 2009. Cumulative Effects of In Utero Administration of Mixtures of “Antiandrogens” on Male Rat Reproductive Development *Toxicol Pathol*; 37: 100-113.
- RIVM. 1999. Developmental and testicular toxicity of butyl benzyl phthalate in the rat and the impact of study design. RIVM report No. 650040 001. (Rijksinstituut voor volksgezondheid en milieu, The Netherlands). 82 p.
- Saillenfait AM, Sabate JP, Gallissot F. 2003. Comparative embryotoxicities of butyl benzyl phthalate, mono-n-butyl phthalate and mono-benzyl phthalate in mice and rats: in vivo and in vitro observations. *Reprod Toxicol*; 17(5): 575-583.
- Saillenfait AM, Laudet-Hesbert A. 2005. Phthalates. *EMC-Toxicologie Pathologie*; 2: 1-13.
- Sharpe RM. 2005. Phthalate exposure during pregnancy and lower anogenital index in boys: wider implications for the general population? *Environ Health Perspect*; 113: A504-505.
- Silva MJ, Barr DB, Reidy JA, Malek NA, 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): 331-338.
- 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): 1056-1061.
- Tyl RW, Myers CB, Marr MC, et al. 2004. Reproductive toxicity evaluation of dietary butyl benzyl phthalate (BBP) in rats. *Reprod Toxicol*; 18(2): 241-264.
- US-EPA. 2003. Butyl benzyl phthalate (CASRN 85-68-7). In: Integrated Risk Information System (IRIS). Available on website <http://www.epa.gov/iris/subst/0293.htm> (consulté en décembre 2012).
- 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): 825-832.
- WHO. 1999. IPCS. Concise international chemical assessment document 17. Butyl benzyl phthalate. (World Health Organisation, Geneva). Available on website <http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad17.htm>.

Wilson VS, Lambright C, Furr J, et al. 2004. Phtalate ester-induced gubernacular lesions are associated with reduced insl3 gene expression in the fetal rat testis. *Toxicol Lett*; 146(3): 207-215.

Partie B – Rapport d'évaluation des méthodes de mesure des niveaux d'exposition sur les lieux de travail

1 Présentation et discussion des méthodes de mesure dans l'air des lieux de travail

1.1 Recensement et classement des méthodes de mesure

Les méthodes de mesure de la concentration d'une substance dans l'air des lieux de travail sont évaluées de manière à recommander une ou plusieurs méthodes de référence permettant d'effectuer des mesures de concentration de la substance à des fins de comparaison avec les valeurs limites d'exposition professionnelle établies par le CES VLEP.

L'objectif n'est pas de classer l'ensemble des méthodes selon un système de notation chiffrée mais plutôt de présenter de manière structurée et systématique les critères permettant d'arriver à un choix final fondé sur un jugement scientifique.

- Catégorie 1A : méthodes reconnues et validées
- Catégorie 1B : méthodes partiellement validées
- Catégorie 2 : méthodes indicatives (des critères essentiels de validation ne sont pas suffisamment explicités).
- Catégorie 3 : méthode non adaptée, des critères essentiels de validation sont absents ou inappropriés

Le tableau suivant présente les méthodes et protocoles de mesure de la concentration en BBzP dans l'air des lieux de travail.

Tableau 13 : Tableau récapitulatif des méthodes de mesure de la concentration en BBzP dans l'air des lieux de travail

N°	Méthode	Protocoles similaires	Catégorie
1	Prélèvement sur filtre en acétate de cellulose et tube de gel de silice - Désorption dans le méthanol - Analyse par chromatographie en phase liquide HPLC (détecteur ultra-violet UV)	DFG méthode 2 :2006 et IFA : méthode 8387 : 2009	3 <i>Pour le suivi de la VLEP-8h, des expositions court terme et de la VLCT-15min pragmatique</i>
2	Prélèvement sur tube de mousse polyuréthane et filtre en fibres de quartz - Désorption dans du toluène - Analyse par chromatographie en phase gazeuse GC (détecteur par ionisation de flamme FID ou capture d'électron ECD)	MétoPol : fiche 96 : 2006 ³⁶	3 <i>Pour le suivi de la VLEP-8h, des expositions court terme et de la VLCT-15min pragmatique</i>

Le graphique ci-dessous présente le domaine pour lesquelles les différentes méthodes ont été testées ainsi que leur limite de quantification au regard de la VLEP-8h recommandée par le CES VLEP.

³⁶ Cette référence a été modifiée par l'INRS lors de la mise à jour de sa base de données MétoPol en novembre 2015 (postérieurement à l'évaluation réalisée dans le cadre de cette expertise) : <http://www.inrs.fr/publications/bdd/metropol.html>

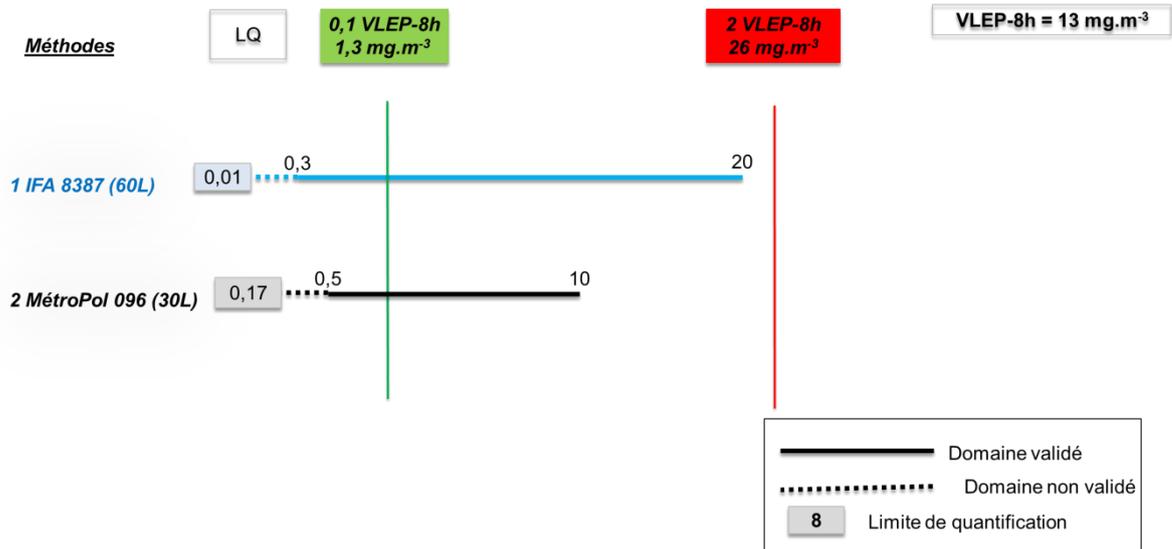


Figure 4 : Domaine de validité et limite de quantification des différentes méthodes comparés au domaine 0,1 à 2 VLEP-8h recommandée par le CES VLEP pour le BBzP

Le graphique ci-dessous présente le domaine, pour lesquelles les différentes méthodes ont été testées, ainsi que leur limite de quantification au regard de la VLCT-15min pragmatique recommandée par le CES VLEP.

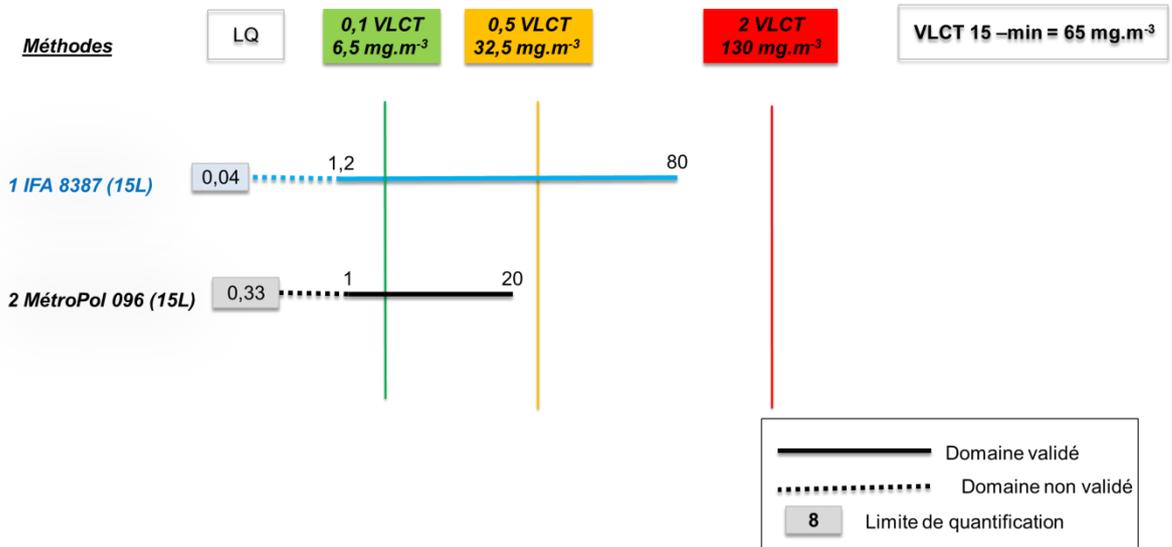


Figure 5 : Domaine de validité et limite de quantification des différentes méthodes comparés au domaine 0,1 à 2 VLCT-15min pragmatique recommandée par le CES VLEP pour le BBzP

1.2 Discussion des méthodes de mesure : Evaluation détaillée des méthodes classées en catégorie 3

1.2.1 Méthode 1 : prélèvement actif sur une membrane en acétate de cellulose suivie d'un tube de gel de silice – désorption méthanol – analyse par HPLC/UV

La méthode 1, décrite par le protocole IFA 8387 (ou DFG méthode 2 : 2006), consiste à effectuer un prélèvement par pompage sur un ensemble de supports constitués d'une membrane filtrante en acétate de cellulose et d'un tube de gel de silice, puis à effectuer une extraction au méthanol et enfin à réaliser un dosage par chromatographie en phase liquide haute performance avec un détecteur UV.

Prélèvement :

Les supports de prélèvement sont décrits : un filtre en acétate de cellulose (diamètre 37 mm et diamètre de pores 0,8 µm) disposé dans une cassette de diamètre 37 mm et un tube de gel de silice standard (longueur de 70 mm et diamètre 6 mm) type ORBO 502.

Le débit recommandé est fixé à 1 L.min⁻¹. La méthode recommande de ne pas dépasser 2 h de prélèvement soit un volume maximal de 120 L.

La méthode convient pour prélever une phase mixte constituée d'un aérosol et d'une phase gazeuse du composé.

Domaine de validation :

La méthode a été validée sur le domaine compris entre 0,3 et 20 mg.m⁻³ (avec un prélèvement d'air de 60 L).

Le domaine de validation couvre donc l'intervalle 0,02 - 1,5* VLEP-8h recommandée par le CES et l'intervalle 0,02 – 1,2 fois la VLCT-15min pragmatique (c'est-à-dire 1,2 à 80 mg.m⁻³ avec un volume d'air prélevé de 15 L).

Limite de détection :

Elle n'est pas mentionnée dans la méthode.

Limite de quantification :

Elle est égale à 0,011 mg.m⁻³ pour un prélèvement de 60 L (1h de prélèvement), ce qui correspond 0,0008 fois la VLEP-8h recommandée par le CES.

Pour un prélèvement de 15 L d'air, elle est égale à 0,044 mg.m⁻³, ce qui correspond à 0,0006 fois la VLCT-15 min recommandée par le CES VLEP.

Efficacité d'adsorption-désorption :

L'efficacité d'extraction est de l'ordre de 97% sans précision sur la manière dont elle a été déterminée ni sur quel support (filtre, gel de silice ou les deux).

Taux de récupération :

La détermination quantitative du taux de récupération dans des conditions de conservation données n'est pas mentionnée dans la méthode.

Linéarité du détecteur :

La linéarité est vérifiée sur la gamme d'étalonnage soit : 0,8 à 8 µg.mL⁻¹, ce qui correspond à une gamme de concentration de :

- 0,033 à 0,33 mg.m⁻³ pour 60 L d'air prélevé
- 0,13 à 1,3 mg.m⁻³ pour 15 L d'air prélevé.

Une dilution est effectuée si les concentrations sont supérieures à la courbe d'étalonnage.

Spécificité de la méthode :

La méthode n'est pas spécifique de la substance en ce qui concerne le prélèvement mais devient spécifique par le choix approprié de conditions chromatographiques permettant la séparation du butylbenzyl-phthalate d'autres composés interférents

Conditions environnementales :

La méthode ne donne aucune information sur ce point

Conservation des échantillons :

Dans des conditions de conservation comprenant une période de 7 jours à température ambiante puis 7 jours à -18°C , la conservation est considérée comme satisfaisante, c'est-à-dire sans perte significative. La méthode ne précise toutefois aucune donnée quantitative.

Capacité de la méthode pour le suivi de la VLCT-15 min pragmatique :

Considérant la limite de quantification de $0,044 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ pour un volume d'air prélevé de 15 L, la méthode permet de réaliser la mesure d'une VLCT-15min et serait aussi adaptée pour effectuer un contrôle technique de la VLCT-15 min pragmatique réalisé dans un cadre réglementaire.

Incertitudes :

L'incertitude a été déterminée par dopage des supports, puis passage de l'air pendant 1 h, extraction puis analyse des échantillons. Dans le domaine de concentrations étudié compris entre $0,3$ et $5,8 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$, l'incertitude est de l'ordre de 4 à 5%.

La méthode est classée en catégorie 3 pour le contrôle de la VLEP-8h recommandée par le CES VLEP. En effet, la méthode a été validée sur le domaine de concentrations compris entre 0,1 et 1,5 fois la VLEP, avec un prélèvement de 1h. Les données sur la capacité de piégeage (volume de claquage, rétention) n'étant pas déterminées, il n'est pas possible de se prononcer sur l'applicabilité de cette méthode à des niveaux de concentrations de 2*VLEP-8h ou pour des prélèvements de plus longue durée.

La méthode est également classée en catégorie 3 pour le contrôle de la VLCT-15min pragmatique recommandée par le CES VLEP. En effet, bien que la limite de quantification permette d'atteindre le dixième de la VLCT-15min pragmatique, le domaine de concentrations validé ne permet pas de dépasser 1,2 VLCT. En l'absence de données sur la capacité de piégeage du tube, il n'est pas possible de savoir si la valeur de 2 VLCT peut être mesurée.

1.2.2 Méthode 2 : Prélèvement actif sur tube de mousse de polyuréthane + filtre – désorption toluène – analyse par GC/FID

La méthode, décrite dans le protocole INRS³⁷ MétroPol 096, consiste à effectuer un prélèvement par pompage sur support adsorbant constitué de deux plages de mousse de polyuréthane associé à un filtre puis à effectuer une extraction au toluène et enfin à réaliser un dosage par chromatographie en phase gazeuse avec un détecteur FID ou ECD.

Prélèvement :

³⁷ Institut National de Recherche et de Sécurité

Le dispositif de prélèvement constitué d'un tube de mousse de polyuréthane (caractéristiques géométriques, capacité du support) et d'un filtre (fibres de quartz, diamètre 37 mm).

Le débit recommandé est fixé à $1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$. La méthode recommande de ne pas dépasser 30 min de prélèvement soit un volume maximal de 30 L.

La méthode pourrait convenir pour prélever une phase mixte (gazeuse + particulaire) du composé.

Domaine de validation :

La méthode a été validée par dopage sur l'intervalle 15 à 300 μg de BBZP sur le support, ce qui correspond à :

- 0,5 à 10 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ pour un volume d'air prélevé de 30 L.
- 1 à 20 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ pour un volume d'air prélevé de 15 L.

La méthode est donc validée entre 0,04 et 0,8 fois la VLEP-8h recommandée par le CES et entre 0,02 et 0,3 fois la VLCT-15min pragmatique recommandée par le CES VLEP.

Limite de détection :

Elle est égale à 1.5 μg de composé/support, ce qui correspond à 0,05 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ pour un prélèvement de 30 L.

Limite de quantification :

Elle n'est pas mentionnée dans la méthode. En l'absence de ce paramètre et prenant comme limite de quantification analytique $3,3\text{xLD}$ soit 4,95 μg , la limite de quantification dans l'air serait égale :

- à 0,165 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ pour un prélèvement de 30 L, soit 0,01 fois la VLEP-8h recommandée par le CES.
- à 0,33 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ pour un prélèvement de 15 L, soit 0,005 fois la VLCT-15min pragmatique recommandée par le CES.

Efficacité d'adsorption-désorption :

Le rendement de récupération de la mousse de polyuréthane pour des niveaux de concentration compris entre 0,5 et 10 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ déterminée à partir de tubes dopés et d'un balayage de l'air de 30 L conduit à une valeur moyenne de 98.3% ($\sigma=2.09\%$) et de 98,5% ($\sigma=2.01\%$) pour des filtres dopés.

Taux de récupération :

La détermination quantitative du taux de récupération dans des conditions de conservation à la température ambiante (les durées de conservation ne sont pas indiquées) est en moyenne de 98,7% ($\sigma=1.87\%$) pour les tubes de mousse de polyuréthane et de 98,6% ($\sigma=1.21\%$) pour les filtres dopés.

Linéarité du détecteur :

La linéarité du détecteur a été vérifiée entre 15 et 300 μg (désorption dans 10 mL de toluène) ce qui correspond à une gamme de 0.5 à 10 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$, ramenés à un prélèvement de 30 L d'air et à une gamme de 1 à 20 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$, ramenés à un prélèvement de 15 L d'air.

Spécificité de la méthode :

La méthode n'est pas spécifique de la substance en ce qui concerne le prélèvement mais devient spécifique par le choix approprié de conditions chromatographiques permettant la séparation du n butyl phtalate d'autres composés interférents. Les conditions analytiques (colonne, conditions de température, détecteur) sont précisées.

Conditions environnementales :

La méthode ne donne aucune information sur ce point

Conservation des échantillons :

Dans des conditions de conservation ambiantes, les tubes peuvent être conservés au moins 8 jours. Les données quantifiées sur le taux de récupération sont données précédemment.

Domaine de mesure accessible :

Selon la valeur de la limite de quantification indiquée précédemment et pour un prélèvement recommandé de 30 L, il est possible d'atteindre $0,165 \text{ mg.m}^{-3}$ soit 0,01 VLEP recommandée par le CES.

Incertitude :

La méthode ne donne aucune estimation d'incertitude.

La méthode est classée en catégorie 3 pour le contrôle de la VLEP-8h recommandée par le CES VLEP. En effet, bien que la limite de quantification permette d'atteindre le dixième de la VLEP-8h, le domaine de concentrations validé ne permet pas de dépasser 0,8 VLEP-8h. De plus, les données de validation établies correspondent à une durée maximale de prélèvement de 30 min et ne permettent pas de juger de son applicabilité pour des prélèvements de plus longue durée. Les conditions de claquage n'ont en effet pas été étudiées. Par ailleurs la méthode ne donne aucune estimation d'incertitude.

La méthode est également classée en catégorie 3 pour le contrôle de la VLCT-15min pragmatique recommandée par le CES VLEP. En effet, bien que la limite de quantification permette d'atteindre le dixième de la VLCT-15min pragmatique, le domaine de concentrations validé ne permet pas de dépasser 0,3 VLCT-15min. En l'absence de données sur la capacité de piégeage du tube, il n'est pas possible de savoir si la valeur de 2 VLCT-15min peut être mesurée. De plus, il n'existe aucune donnée d'incertitude.

2 Conclusions et recommandations

La méthode 1 décrite par le protocole DFG (ou IFA 8287) consiste à effectuer un prélèvement sur un ensemble constitué d'un filtre en acétate de cellulose et d'un tube de gel de silice puis à l'analyse par chromatographie en phase liquide avec détecteur UV après désorption des supports dans le méthanol.

L'ensemble du dispositif de prélèvement décrit dans le protocole DFG peut permettre, en mettant en œuvre une cassette fermée de 37 mm, en amont du tube de gel de silice, et au débit recommandé de 1 L.min⁻¹, de s'assurer de la collecte de la fraction inhalable de l'aérosol, selon la norme EN 481 et par conséquent de prélever la phase mixte (aérosol + gaz) du composé.

Ces méthodes sont classées en catégorie 3, du fait de l'insuffisance ou du caractère incomplet des données publiées, notamment sur la capacité de piégeage du support, rendant impossible de s'assurer qu'elles respectent l'ensemble des exigences de la norme NF EN 482 .

Cependant si l'on considère la très faible volatilité du BBzP (0,0012 Pa à 20°C) et une mise en œuvre ne nécessitant pas le recours à des procédés dispersifs (pulvérisation haute pression par exemple), ce qui est généralement le cas, il est improbable, voire impossible que des niveaux de concentration correspondant à 2 fois les VLEP recommandées (26 et 130 mg.m⁻³) puissent être atteints. Sur la base de ces hypothèses les méthodes proposées pourraient être mises en œuvre pour contrôler l'exposition professionnelle au BBzP sous réserve d'une validation complète (notamment prélèvement de longue durée pour le contrôle de la VLEP-8h et détermination des incertitudes de mesure).

Date de validation du rapport d'expertise collective par le comité d'experts spécialisé : le 07/03/2016

Maisons-Alfort, le

Au nom des experts du CES

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

M. Viau

Président du CES

3 Bibliographie

NF EN 482 : 2012 - Atmosphères des lieux de travail - Exigences générales concernant les performances des modes opératoires de mesurage des agents chimiques

INRS MétroPol : fiche 96/V01.01 : 2006 : Phthalates par chromatographie en phase gazeuse

DFG méthode 2 :2006 : Phthalates (Butylbenzyl-, Diallyl-, Dibenzyl-, Di-n-butyl-, Dicyclohexyl-, Diethyl-, Di(2-ethylhexyl) phthalate)
(<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/3527600418.am8461e0011/pdf>)

IFA : méthode 8387 : 2009 : Phthalate
(<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/3527600418.am8461e0011/pdf>)

ANNEXES

Annexe 1 : partie A – Description d'études réalisées en population générale

Etudes chez l'Homme

Duty *et al.* (2003) ont cherché les corrélations entre les niveaux urinaires de plusieurs monoesters de phtalate et des indicateurs de la qualité du sperme, en population générale (Duty *et al.*, 2003). Dans cette étude, 168 hommes âgés de 20 à 54 ans ont été recrutés dans le Massachusetts lors d'une consultation pour analyse spermatique en raison d'une infertilité. La qualité du sperme a été évaluée selon les critères de l'OMS (WHO, 1999) (nombre de spermatozoïdes inférieur à 20 millions.ml⁻¹ dont moins de 50 % de mobiles) d'une part et le critère de Tygerberg pour ce qui est de la morphologie (nombre de spermatozoïdes normaux inférieur à 4 %). Le groupe témoin était constitué d'hommes ayant des résultats supérieurs aux valeurs de références pour les trois critères. Huit monoesters de phtalate ont été mesurés dans un échantillon d'urine unique collecté le même jour que l'échantillon de sperme : le MEP, le MMP, MEHP, MnBP, le MBzP, le mono-octyl-phtalate (MOP), le mono-iso-nonyl-phtalate (MiNP) et le mono-cyclohexyl-phtalate (MCHP). Les auteurs ont mis en évidence une relation entre les augmentations des concentrations de MBzP urinaires et la diminution de la concentration de spermatozoïdes. Cette dernière était 5 fois plus fréquente dans le dernier tertile de concentrations urinaires (13,4 à 540,2 µg.L⁻¹). En revanche, ils n'ont pas mis en évidence de relation entre les augmentations des concentrations de MBzP et la diminution de la mobilité des spermatozoïdes.

L'étude précédente a été reprise en 2006 par Hauser *et al.*, en la complétant par l'inclusion de 295 hommes supplémentaires et par le dosage de 2 métabolites urinaires glucuroconjugués du DEHP. Les résultats ne montrent pas de relation dose-réponse entre l'excrétion urinaire des métabolites suivis et la diminution du nombre de spermatozoïdes au ml ou de leur mobilité, sauf pour le MnBP. Une étude similaire, effectuée en Suède chez un groupe de 234 jeunes hommes, lors de leur examen médical pour intégrer l'armée ne montre pas d'association entre les concentrations urinaires de métabolites de phtalates (MnBP, MBzP et MEHP) et des modifications de la qualité spermatique ou des concentrations sériques des hormones de la reproduction (Jonsson *et al.*, 2005).

Une autre étude, émanant de l'équipe de Duty *et al.*, a recherché les relations entre l'excrétion urinaires de métabolites de phtalates (MEP, MBzP, MnBP, MEHP et MMP) et des paramètres spécifiques de la mobilité des spermatozoïdes (l'analyse de ces paramètres a été effectuée grâce au programme computer-aided sperm analysis « CASA ») (Duty *et al.*, 2004). Les auteurs suggèrent une relation entre l'augmentation des concentrations urinaires de MBzP et des modifications des paramètres de la mobilité (réduction de la vitesse linéaire et curvilinéaire), mais les résultats ne sont pas significatifs. En revanche ils n'expliquent pas la relation inverse trouvée entre les concentrations de MnBP et les paramètres de mobilité (augmentation de la vitesse linéaire et curvilinéaire, non significative). Une troisième étude, de la même équipe a étudié les relations dose-réponse entre les concentrations de métabolites urinaires de phtalates et les taux sériques d'hormones de la reproduction (FSH, LH, sex-hormone-binding globulin SHBG, testostérone, et inhibine B) chez 295 hommes (Duty *et al.*, 2005). Les résultats montrent que les concentrations de FSH étaient significativement diminuées lorsque les concentrations de MBzP urinaires augmentaient. Par ailleurs, les concentrations d'inhibine B étaient significativement diminuées lorsque les concentrations urinaires de MnBP augmentaient. Des organismes d'expertise ont évalué les valeurs de référence pour l'exposition chronique au BBzP par voie orale. Il s'agit de l'IPCS (WHO, 1999), de Santé Canada (Health Canada, 2000), du RIVM (2001), de l'US-EPA (2003), et de la Commission européenne (EC, 2007). Le tableau ci-dessous résume les valeurs de référence.

Résume les différentes valeurs de référence pour le BBzP.

Organisme, année	Animal, durée et voie d'exposition	Effet	Dose critique	Facteur de sécurité ou incertitude	VTR	Étude clef
WHO, 1999	Rats Wistar, 90j, vo	Lésions pancréatiques	BMD= 132 mg/kg/j	100	DJA= 1.32 mg/kg/j	Hammond, 1987
Health canada, 2000	Rats Wistar 90j, vo	Lésions pancréatiques	BMD= 132 mg/kg/j	100	DJA= 1.32 mg/kg/j	Hammond, 1987
RIVM, 2001	Rats Wistar 90j, vo	↑ Poids des reins	NOAEL= 151 mg/kg/j	300	TDI=0.5 mg/kg/j	Hammond, 1987
US-EPA, 2003	Rats Wistar 90j, vo	↑ Poids du foie	NOAEL= 159 mg/kg/j	1000	RfD = 0,2 mg/kg/j	NTP, 1985

Bibliographie

Duty SM, Silva MJ, Barr DB, et al. 2003. Phthalate exposure and human semen parameters. *Epidemiology*; 14(3): 269-277.

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, Calafat AM, Silva MJ, Ryan L, Hauser R. 2005. Phthalate exposure and reproductive hormones in adult men. *Hum Reprod*; 20(3): 604-610.

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): 682-691.

Health Canada. 2000. Environment Canada. Priority substances list assessment report: butylbenzylphthalate. (Health Canada, Canada). 64 p.

Jonsson BA, Richthoff J, Rylander L, Giwercman A, Hagmar L. 2005. Urinary phthalate metabolites and biomarkers of reproductive function in young men. *Epidemiology*; 16(4): 487-493.

Krauskopf LG. 1973. Studies on the toxicity of phthalates *via* ingestion. *Enviro. Health. Perspect*; 3: 61-72.

Main KM, Mortensen GK, Kaleva MM, et al. 2005. Human breast milk contamination with phthalates and alterations of endogenous reproductive hormones in three month old infants. *Environ Health Perspect*; 114(2): 270-276.

WHO. 1999. IPCS. Concise international chemical assessment document 17. Butyl benzyl phthalate. (World Health Organisation, Geneva). Available on website <http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad17.htm>

RIVM. 2001. Re-evaluation of human toxicological maximum permissible risk levels. RIVM report No. 711701025. (Rijksinstituut voor volksgezondheid en milieu, The Netherlands). 297 p.

US-EPA. 2003. Butyl benzyl phthalate (CASRN 85-68-7). In: Integrated Risk Information System (IRIS). Available on website <http://www.epa.gov/iris/subst/0293.htm> (consulté en décembre 2012).

Annexe 2 : partie B - Support technique : présentation détaillée des méthodes de mesure dans l'air des lieux de travail

Annexe B.1 : Méthode 1 : Prélèvement par piégeage sur un ensemble filtre en acétate de cellulose et tube de gel de silice – désorption dans le méthanol – analyse par HPLC/UV

METHODE n°1		Prélèvement par piégeage sur un ensemble filtre en acétate de cellulose et tube de gel de silice – désorption dans le méthanol– analyse par HPLC/UV
Paramètres		DFG méthode 2 :2006 et IFA : méthode 8387 : 2009
Gaz/vapeur – Aérosol - Mixte		phase mixte (aérosol + phase gazeuse)
Prélèvement	Actif / passif	actif
	Système de prélèvement	ensemble filtre en acétate de cellulose (diamètre de pores 0,8µm) de 37 mm de diamètre + un tube de gel de silice (type orbo 502-SUPELCO)
	Débit	Débit recommandé = 1 L.min ⁻¹
	Volume	Volume d'air maximal recommandé : 120 L
	Durée	Durée maximale recommandée : de 1 à 2 heures
Analyse	Préparation échantillon	Désorption de l'ensemble filtre + tube gel de silice dans 2,5 mL de méthanol. Agitation mécanique pendant 1 h.
	Technique d'analyse	Analyse par chromatographie en phase liquide avec détecteur UV
	Paramètres analytiques	Colonne : Kromasil C18 (longueur 0,25 m ; diamètre intérieur 4 mm ; taille des particules 5 µm) Température de colonne : 23°C Eluants : (A) acétonitrile-eau (70%/30%) et (B) acétonitrile Gradient : 3 min (A) puis 10 min (B) 10 min (B) et (A) au delà de 23 min ; débit d'éluant : 0,8 mL.min ⁻¹ . Longueur d'onde du détecteur : 230 nm

METHODE n°1	Prélèvement par piégeage sur un ensemble filtre en acétate de cellulose et tube de gel de silice – désorption dans le méthanol– analyse par HPLC/UV	
Paramètres	DFG méthode 2 :2006 et IFA : méthode 8387 : 2009	
Domaine de validation / étendue de mesure	Domaine entre 0,3 et 20 mg.m ⁻³	
Coefficient de désorption / Efficacité de désorption	Efficacité de désorption moyenne = 97.5%	
Taux de récupération	Non renseigné	
Données de validation expérimentale du débit d'échantillonnage	Non renseigné	
Capacité / Volume de claquage	Non renseigné	
Linéarité de réponse du détecteur (instrument d'analyse)	<p>La linéarité est vérifiée sur la gamme d'étalonnage soit : 0,8 à 8 µg.mL⁻¹, ce qui correspond à une gamme de concentration de :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 0,033 à 0,33 mg.m⁻³ pour 60 L d'air prélevé - 0,13 à 1,3 mg.m⁻³ pour 15 L d'air prélevé. <p>Une dilution est effectuée si les concentrations sont supérieures à la courbe d'étalonnage</p>	
Essais de conservation et de stockage avant analyse	Conservation satisfaisante pendant 14 jours englobant une période de 7 jours à température ambiante puis ensuite au froid (T < -18°C)	
Conditions environnementales	Non renseigné	
Sélectivité	Non renseigné	
Spéciation	Non renseigné	
Conditions de détermination de VLEP-8h	Estimation de l'incertitude élargie	Incertitude = comprise entre 4.5 et 5% dans un domaine de concentrations compris entre 0,3 et 5,8 mg.m ⁻³ (pour 60L d'air prélevé)
	Limite de détection	Non renseigné
	Limite de quantification	LQ = 0,011 mg.m ⁻³ pour un prélèvement de 60 L d'air
Conditions de détermination de VLCT-15min	Estimation de l'incertitude élargie	Non renseigné
	Limite de détection	Non renseigné
	Limite de quantification	0,044 mg.m ⁻³ , pour 15L d'air prélevé (déterminée à partir de la LQ établie pour 60L d'air prélevé)

Annexe B.2 : Méthode 2 : Prélèvement par piégeage sur mousse de polyuréthane et/ filtre en fibre de quartz– désorption dans le toluène – analyse par GC (détecteur FID/ECD)

METHODE n°2		Prélèvement par piégeage sur mousse de polyuréthane ou mousse de polyuréthane+fitre en fibres– de quartz- désorption dans le toluène – analyse par GC (détecteur FID/ECD)
Paramètres		INRS MétroPol 96 : 2006
Gaz/vapeur – Aérosol - Mixte		Le composé est constitué d'une phase gazeuse ou mixte
Prélèvement	Prélèvement actif	Prélèvement actif
	Système de prélèvement	tube en verre constitué de 2 zones de mousses de polyuréthane sur 4 cm de densité 25-27 kg/m ³ et de caractéristiques géométriques : longueur 150 mm ; diamètre intérieur 8 mm et d'un filtre (si phase particulaire) en fibres de quartz de diamètre 37mm
	Débit	Débit recommandé = 1 L.min ⁻¹
	Volume	Volume d'air maximal recommandé : 30 L
	Durée	Durée recommandée : 30 min (pour la VLEP-8 h) et 15 min (pour la VLCT).
Analyse	Préparation échantillon	Désorption des 2 zones de mousse ensemble dans 10 mL de toluène. Agitation aux ultra-sons de 4 minutes.
	Technique d'analyse	Chromatographie en phase gazeuse équipée d'un détecteur FID ou à capture d'électrons
	Paramètres analytiques	Température injecteur : 290 - 300°C Température détecteur : 290 - 300°C Colonne : BP-1 (longueur 25 m, diamètre intérieur 0.53-mm, épaisseur de la 0,32 mm, phase stationnaire 0,5 µm) Température de colonne : 0,5 min (90°C) puis 30°C.min ⁻¹ de 90 à 290°C et 4,5 min (290°C)

METHODE n°2	Prélèvement par piégeage sur mousse de polyuréthane ou mousse de polyuréthane+fitre en fibres– de quartz- désorption dans le toluène – analyse par GC (détecteur FID/ECD)	
Paramètres	INRS MétroPol 96 : 2006	
Domaine de validation / étendue de mesure	Domaine entre 0,5 et 10 mg.m ³ (30L d'air prélevé)	
Coefficient de désorption / Efficacité de désorption	Pour des concentrations comprises entre 0,5 et 10 mg.m ⁻³ , le coefficient moyen d'absorption désorption de Kt = 98,30% avec un écart-type de 2.09% (déterminé par dopage de la mousse de 15µg à 300 µg de BBP et 30 L d'air prélevé) et de 98,5% avec un écart-type de 2,01% dans les mêmes conditions de dopage avec un filtre en fibres de quartz.	
Taux de récupération	Non renseigné	
Données de validation expérimentale du débit d'échantillonnage	Non applicable	
Capacité / Volume de claquage	Non renseigné	
Linéarité de réponse du détecteur (instrument d'analyse)	La linéarité a été vérifiée pour une quantité de composé comprise entre 15 et 300 µg (dans 10 mL de toluène) équivalents à des concentrations entre 0,5 et 10 mg.m ⁻³ (pour un prélèvement de 30 L d'air)	
Essais de conservation et de stockage avant analyse	Les tubes peuvent être conservés 8 jours à température ambiante. A partir d'échantillons dopés à 15µg, 150µg et 300 µg, le taux de récupération moyen = 98,76% avec un écart-type de 1,87% avec la mousse et égal à 98,6% avec un écart type de 1,21 %pour les filtres.	
Conditions environnementales	Non renseigné	
Sélectivité	Compte tenu de la présence probable de phtalates dans de nombreux matériaux, il est impératif de vérifier l'absence d'interférents sur des échantillons à blanc (solutions de désorption de tronçons de mousses)	
Spéciation	Méthode applicable pour une famille de phtalates	
Conditions de détermination de VLEP-8h	Estimation de l'incertitude élargie	Non renseigné
	Limite de détection	1,5 µg par échantillon, soit 0,05 mg.m ⁻³ pour 30L d'air prélevé
	Limite de quantification	Non renseigné
Conditions de détermination de VLCT-15min	Estimation de l'incertitude élargie	Non renseigné
	Limite de détection	1,5 µg par échantillon, soit 0,1 mg.m ⁻³ pour 15 L d'air prélevé
	Limite de quantification	Non renseigné

Annexe 3 : Consultation publique

Ce rapport et les conclusions ont fait l'objet d'une consultation publique du 12/03/2015 au 12/05/2015.

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

- DEZA a.s.

Annexe 4 : Suivi des actualisations du rapport

Date	Version	Description de la modification
12/03/2014	01	Version pour consultation publique
15/12/2015	02	Prise en compte de la consultation publique (ajout pour signaler la procédure de consultation)
07/03/2016	03	Version finale (version amendée suite à l'identification d'une erreur de calcul dans la construction de la VLEP-8h)



Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
14 rue Pierre et Marie Curie
94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr / [@Anses_fr](https://twitter.com/Anses_fr)