

Surveillance biologique de l'exposition au phtalate de di-(2-éthylhexyle) (DEHP) dans six entreprises françaises



EN
RÉSUMÉ

AUTEURS :

R. Gaudin, P. Marsan, S. Ndaw, A. Robert, laboratoire « Surveillance biologique des expositions aux substances organiques » (SBSO), département Polluants et santé, INRS

Le phtalate de di-(2-éthylhexyle) (DEHP) est une substance toxique pour la reproduction qui entre dans la formulation de nombreux produits utilisés pour la construction, l'automobile, l'habillement et le matériel médical. Une étude a été réalisée chez 62 salariés exposés au DEHP, avec le dosage de 3 métabolites urinaires : phtalate de mono-(2-éthylhexyle) (MEHP), phtalate de mono-(2-éthyl-5-carboxypentyle) (5cx-MEPP) et acide 2-éthylhexanoïque (2-EHA). Elle révèle que les domaines de la préparation des « *compounds* » (granulés solides), de l'utilisation des plastisols et de la fabrication de papiers peints sont les plus exposants. Cette étude permet également de proposer des valeurs guides pour le MEHP (100 µg.g⁻¹ de créatinine urinaire) et pour le 5cx-MEPP (280 µg.g⁻¹ de créatinine urinaire).

MOTS CLÉS

Surveillance biologique / biométrie / produit chimique / risque chimique / phtalate

ÉTAT DES LIEUX

En 1967, Guess et al. [1] montrent qu'un ester phtalique contamine le sang contenu dans les poches de transfusion en migrant à partir du polychlorure de vinyle (PVC). En 1970, Marcel et Noel [2], Jaeger et Rubin [3] révèlent que cet ester est le phtalate de di-(2-éthylhexyle) (DEHP). Plus de 30 ans après, Blount et al. [4] observent, pour la première fois, l'excrétion de métabolites urinaires de phtalates chez 75 % des 2 000 individus d'une population de référence américaine. En Europe, Koch et al. [5] corroborent ces résultats en quantifiant des métabolites urinaires de phtalates auprès de 300 personnes appartenant à une population de référence allemande. Ces travaux sont ensuite complétés par les publications de Silva et al. [6], Calafat et al. [7], Mortensen et al. [8], Main et al. [9], Wittassek [10] où est attestée la présence de métabolites du DEHP dans le lait maternel, les cordons ombilicaux, le liquide amniotique... Ainsi, la contamination de l'homme par le DEHP est avérée.

Plastifiant de choix du polychlorure de vinyle (PVC), le DEHP (n° CAS 117-81-7) a eu ces 50 dernières années une importance économique considérable au regard des quantités produites ou mises en œuvre. En 2002, la production mondiale a atteint 2 millions de tonnes (t) [11]. Puis, sa consommation a diminué notablement dans l'Union Européenne. Ainsi de 595 000 t produites et/ou utilisées en 1997, cette quantité est passée à 221 000 t en 2004 [12] et serait très inférieure à 100 000 t actuellement. Cette diminution se traduit par la décroissance régulière de la concentration en métabolites urinaires du DEHP au sein de populations d'étudiants [13]. Parallèlement, l'inverse est observé pour le phtalate de di-isononyl (DINP) et le phtalate de di-isodécyle (DIDP), utilisés en Europe comme principaux substituts du DEHP et réputés moins toxiques.

Néanmoins, le DEHP fait encore partie de l'environnement quotidien. Il peut se retrouver dans la formulation de nombreuses applications industrielles et domestiques : produits pour la construction, l'équipement de la maison,

Surveillance biologique au phtalate de di-(2-éthylhexyle) (DEHP) dans six entreprises françaises

l'automobile, l'habillement, les câbles électriques, le matériel médical (poches de sang, tubulures...). La proportion de DEHP contenue dans le PVC dit « souple » est importante et varie de 20 à 50 % en poids selon les multiples usages.

TOXICITÉ DU DEHP

L'absence de liaisons chimiques covalentes entre le DEHP et le PVC souple permet au DEHP de se libérer de sa matrice PVC. Ceci expliquerait en partie les contaminations humaines et environnementales évoquées précédemment.

Le DEHP est principalement toxique pour la reproduction et a un effet de perturbation endocrinienne. Ce dernier concept aurait été évoqué pour la première fois en 1991 au cours d'une conférence organisée par Colborn à Wingspread (Wisconsin, USA). Cette notion – certains parlent de nouveau paradigme – où l'effet ne serait plus en relation linéaire avec la dose, est de plus en plus mise en avant pour le DEHP, notamment par Gray et al. [14], Stroheker et al. [15], Kortenkamp [16], Pan et al. [17], Chauvigné et al. [18], Lambrot et al. [19].

Dans le cadre de la réglementation européenne CE n°1272/2008, dit « règlement CLP », le DEHP est classé en catégorie 1B des reprotoxiques avec la mention de danger H360FD (« *Peut nuire à la fertilité, peut nuire au fœtus* »). Ces dispositions ont été prises au vu de l'évaluation de risque commanditée par l'Union Européenne et effectuée par la Suède [20]. Les conclusions tirées de cette évaluation rejoignent celles du NTP-CERHR (*National Toxicology Program - Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction*) [21] américain. En 1999, l'Union Européenne interdit, à titre provisoire, l'usage du DEHP dans la fabrication des jouets pour enfants ainsi que dans tout article

de puériculture. Cette interdiction est définitive depuis le 16 janvier 2007 (directive 2005/84/CE du 14 décembre 2005).

En France, l'exposition des travailleurs au DEHP est régie par le décret n° 2001-97 du 1^{er} février 2001, dit « décret CMR » (cancérogènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction) [22], qui renforce notamment les dispositions nécessaires à l'évaluation des risques encourus par les travailleurs lors de leur activité.

Il convient également de signaler qu'avant 2000, le DEHP était classé cancérogène possible pour l'homme (catégorie 2B) par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC). Mais, en raison de travaux ayant montré l'impossibilité pour l'homme de manifester cet effet cancérogène (cancer hépatique lié à la prolifération de peroxysomes), le CIRC a décidé de rétrograder le DEHP en catégorie 3 (agent ne pouvant être classé du point de vue de sa cancérogénicité pour l'homme) [23]. Cette décision a cependant été controversée, en particulier par Melnick [24] ; de même, le NTP-CERHR considère toujours le DEHP comme un cancérogène possible pour l'homme [15]. Outre les évaluations de risque précitées, la toxicité du DEHP a fait l'objet de nombreuses publications comme celles de Latini [25], Hauser et Calafat [26], Heudorf et al. [27], Wittasek et Angerer [28]. L'effet irritant pour les voies respiratoires (hyperréactivité bronchique, asthme) [29 à 32] a été également rapporté.

MÉTABOLISME DU DEHP

Le métabolisme du DEHP a été étudié de façon approfondie chez l'animal [33], puis chez l'homme [34 à 42]. Le DEHP pénètre dans l'organisme par les voies inhalatoire, digestive et cutanée. Après absorption, cette substance est rapidement

métabolisée sous l'action de lipases, en phtalate de mono(2-éthylhexyle) (MEHP), métabolite primaire qui est transformé très rapidement en métabolites oxydés secondaires après de multiples oxydations (figure 1). La chaîne latérale libérée lors de la métabolisation du DEHP se transforme en acide 2-éthylhexanoïque (2-EHA) via le 2-éthylhexanol.

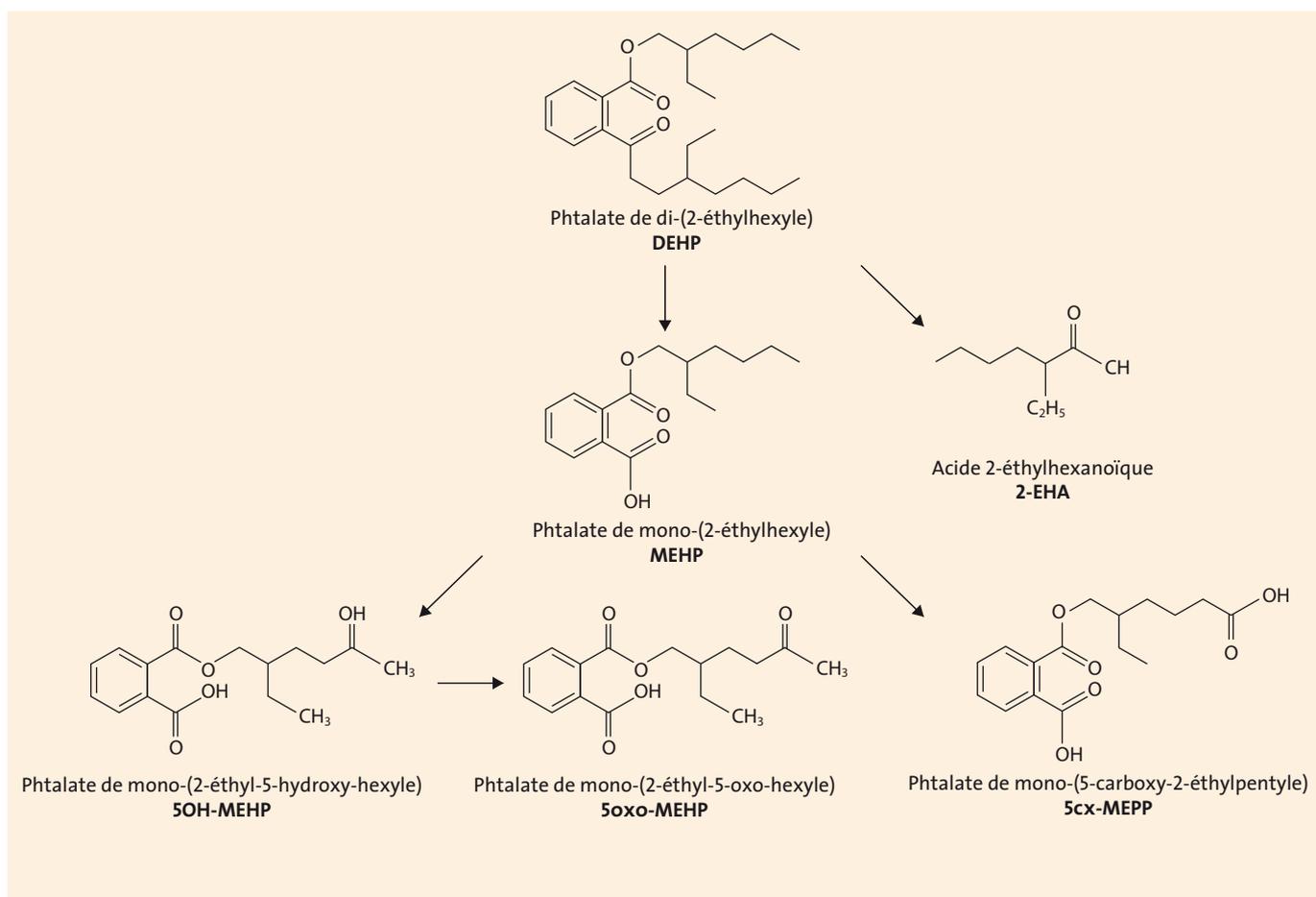
L'excrétion urinaire du MEHP ainsi que celle des métabolites secondaires les plus importants (sous formes glucuro-conjuguée et non conjuguée) représente environ 70 % de la dose ingérée. Les maxima d'excrétion des métabolites principaux s'observent environ 4 heures (h) après l'ingestion et l'élimination est quasi complète 48 h après l'ingestion. Les demi-vies (2^e phase d'élimination urinaire) sont respectivement de 5 h pour le MEHP et 10 à 15 h pour les principaux métabolites secondaires, à l'exception du 2cx-MMHP dont la demi-vie est de 24 h environ [39].

DONNÉES D'EXPOSITIONS PROFESSIONNELLES

Les évaluations de risque réalisées par l'Union Européenne et les États-Unis [20, 21] mettent en évidence un manque de données d'exposition professionnelles au DEHP. En effet, la littérature ne fait état que de rares publications axées principalement sur la surveillance atmosphérique des expositions, avec des concentrations variant de 0,5 à 5 mg.m⁻³ [20]. En France, les quelques mesures atmosphériques répertoriées par la base de données COLCHIC font apparaître des concentrations en DEHP allant de 0,01 à 87 mg.m⁻³ (2,7 mg.m⁻³ en valeur moyenne). Ces résultats sont en cohérence avec la publication de Protois et al. [43] et bien souvent inférieurs à la valeur limite moyenne d'exposition (VME) française de 5 mg.m⁻³,

↓ **Figure 1**

Métabolisme simplifié du DHEP.



identique à celle fixée par l'ACGIH (*American Conference of Governmental Industrial Hygienists*). Les contributions plus anciennes de Milkow et al. [44] (1973), Thiess et Fleig [45], Nielsen et al. [46], sont également à prendre en compte. Cependant, l'évaluation des concentrations atmosphériques n'apparaît pas très adaptée pour apprécier l'exposition aux phtalates dans la mesure où ce sont des produits peu volatils. La surveillance biologique comme outil d'évaluation des expositions aux phtalates est, quant à elle, pertinente.

Peu de publications renseignent sur l'excrétion urinaire de métabolites du DEHP observée chez des salariés travaillant dans le secteur du PVC souple. En 1993, Dirven et al. [47] ont montré des expositions avérées chez des salariés appartenant à une entreprise néerlandaise de fabrication de bottes en PVC souple. Plus récemment, Pan et al. [17], Hines et al. [48], Gaudin et al. [49, 50] ont réalisé des campagnes d'évaluation biologique des expositions professionnelles au DEHP, respectivement en Chine, aux États-Unis et en France.

SURVEILLANCE BIOLOGIQUE DES EXPOSITIONS PROFESSIONNELLES AU DEHP RÉALISÉE PAR L'INRS

Afin de mieux connaître les niveaux d'expositions professionnelles au DEHP, l'Institut national de recherche et de sécurité (INRS, laboratoire « Surveillance biologique des expositions aux substances organiques (SBSO)») et le Commissariat à l'énergie atomique (laboratoire d'étude du métabolisme des médicaments) ont tout d'abord mis au point une technique de dosage des

Surveillance biologique au phtalate de di-(2-éthylhexyle) (DEHP) dans six entreprises françaises

métabolites urinaires représentatifs du métabolisme du DEHP et/ou réputés toxiques [49]. Cette technique permet de quantifier le phtalate de mono(2-éthylhexyle) (MEHP), le phtalate de mono-(2-éthyl-5-carboxypentyle) (5cx-MEPP) et l'acide 2-éthylhexanoïque (2-EHA). Puis une étude a été réalisée par l'INRS, auprès de salariés exerçant dans plusieurs entreprises françaises produisant ou utilisant le DEHP [50]. Cet article restitue la méthode et les résultats obtenus lors de cette campagne de prélèvements en entreprise afin de contribuer à l'amélioration de l'évaluation du risque lié au DEHP en milieu professionnel. Il apporte des données d'imprégnation et propose des valeurs guides biologiques concernant deux métabolites du DEHP, afin d'aider l'interprétation de ces données par les médecins du travail et les hygiénistes industriels.

MÉTHODE

CHOIX DES ENTREPRISES ET ORGANISATION DES INTERVENTIONS

À l'aide des Caisses d'assurance retraite et de santé au travail (CARSAT) et de la Caisse régionale d'assurance maladie d'Île-de-France (CRAMIF), plusieurs entreprises ont été sollicitées dans les secteurs industriels liés à la production du DEHP ainsi qu'à la fabrication et/ou l'utilisation de « *compounds* » (granulés solides obtenus après mélange de PVC, de DEHP et d'additifs) et de plastisols (mélange liquide de PVC, de DEHP et d'additifs). Ces deux produits contiennent 30 à 40 % en poids de DEHP.

Préalablement à l'étude de terrain, une déclaration portant sur le protocole a été faite auprès de la Commission nationale de l'informatique et des libertés (CNIL).

L'étude a été présentée aux membres du Comité d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail (CHSCT) de chaque entreprise, avec l'aide de leur service de santé au travail et l'appui des services prévention de la CARSAT concernée ou de la CRAMIF.

Les salariés volontaires ont été informés de l'intérêt et du déroulement de l'étude par le médecin du travail et par le responsable hygiène et sécurité de leur entreprise. Leur consentement a été recueilli.

À l'issue de l'étude, un rapport de synthèse contenant les résultats anonymisés et leur interprétation a été remis à chaque entreprise ainsi qu'au service prévention de la CARSAT ou de la CRAM concernée. Lorsque cela était nécessaire, des actions de prévention ont été proposées. La remise de ce rapport s'est accompagnée, pour plusieurs entreprises, d'une réunion entre les membres du CHSCT et un représentant de l'INRS afin de commenter les données de l'étude. Les résultats nominatifs ont été envoyés, sous pli confidentiel, au médecin du travail.

PRÉLÈVEMENTS URINAIRES ET DOSAGES

Les prélèvements urinaires ont été réalisés quotidiennement par l'équipe de l'INRS, en début et fin de poste de travail, durant 5 jours consécutifs, auprès de salariés volontaires exposés au DEHP, ainsi qu'auprès de salariés volontaires non exposés. Ces derniers, considérés comme « témoins », travaillent majoritairement dans des services administratifs.

Les échantillons urinaires ont été recueillis dans des flacons en verre ainsi que des flacons de congélation (20 ml) en polyéthylène (PE exempt de DEHP), qui avaient été préalablement nettoyés à l'acé-

tonitrile (également exempt de DEHP) afin d'éviter une éventuelle contamination. Les échantillons urinaires ont été congelés sur place, dans des petits congélateurs portables, pour analyses ultérieures au laboratoire SBSO de l'INRS. Une fiche de renseignements nominative a été remplie quotidiennement lors du prélèvement de fin de poste. Celle-ci renseigne sur la nature du poste occupé, l'activité de la journée, le port d'équipement de protection... La méthode analytique de dosage [49] repose sur la préparation « en ligne » de l'échantillon, suivie d'une séparation analytique par chromatographie liquide haute performance couplée avec la spectrométrie de masse en tandem (HPLC-MS/MS). Après hydrolyse enzymatique, l'échantillon urinaire est purifié « en-ligne » à l'aide d'une colonne RAM (*Restricted Access Material-Lichrospher RP-8 ADS*, Merck®). L'échantillon est ensuite dirigé, pour séparation, vers une colonne analytique (Phenomenex® Synergi 4µ Polar-RP) couplée à un spectromètre de masse (1200L Varian®) où les métabolites sont détectés et quantifiés. Cette méthode HPLC-MS/MS a fait l'objet de comparaisons interlaboratoires très satisfaisantes organisées par un laboratoire allemand de l'Université d'Erlangen-Nüremberg (*Institute and Out-Patient Clinic for Occupational Social and Environmental Medicine*).

La créatinine urinaire a été déterminée par colorimétrie (Cobas Mira S plus, Roche Diagnostic System®) par le laboratoire « Surveillance des expositions aux substances inorganiques » de l'INRS.

ANALYSES STATISTIQUES

L'exploitation statistique des résultats a été réalisée à l'aide du logiciel Statgraphics plus®. Le test non-paramétrique de Mann-Whitney a

été utilisé pour les comparaisons salariés exposés vs salariés non-exposés et début de poste vs fin de poste. Les différences ont été considérées comme étant significatives lorsque $p < 0,05$.

RÉSULTATS

ENTREPRISES ET SALARIÉS

Parmi les entreprises sollicitées, six ont accepté de collaborer à l'étude. Soixante-deux travailleurs potentiellement en contact avec le DEHP ont fait l'objet de prélèvements (521 recueils urinaires dont 262 en début de poste et 259 en fin de poste) ainsi que 39 personnes non exposées professionnellement (282 recueils urinaires dont 143 en début de poste et 139 en fin de poste).

PRODUCTION DE DEHP : 1 ENTREPRISE PARTICIPANTE

Cette entreprise, qui emploie 90 salariés, produit annuellement environ 60 000 t de DEHP. Le procédé chimique de fabrication repose sur l'estérification de l'anhydride phtalique – obtenu après oxydation de l'ortho-xylène – par l'éthylhexanol. Seize salariés affectés à la production ou au contrôle et 10 non exposés appartenant aux services administratifs ont participé aux prélèvements.

PRÉPARATION ET APPLICATION DE PLASTISOLS : 1 ENTREPRISE PARTICIPANTE

Dans cette entreprise, des plastisols, contenant 33 % de DEHP, servent à l'enduction automatique par trempage de flacons en verre. Après séchage à 160 °C environ, les flacons recouverts d'une fine couche de plastisols sont sérigraphiés selon les besoins. Ces flacons sont destinés à l'industrie phar-

maceutique et au secteur de la parfumerie. Cent tonnes de DEHP sont ainsi utilisées chaque année. Cinq salariés exposés et 5 non exposés ont fait l'objet de prélèvements.

PRODUCTION DE « COMPOUNDS » : 2 ENTREPRISES PARTICIPANTES

La fabrication de « compounds » à base de PVC et de DEHP s'effectue en plusieurs étapes. Dans un premier temps le PVC, le DEHP et divers additifs (stabilisants, lubrifiants, charges diverses, pigments...) sont mélangés afin d'obtenir un produit appelé « dry-blend ». Ce mélange est ensuite extrudé à chaud et le gel pâteux obtenu, après refroidissement, subit l'étape de granulation précédant l'étape ultime d'ensachage. La température lors de ce processus peut atteindre 70 °C.

La première entreprise participante emploie 190 salariés et utilise 3 000 t de DEHP chaque année. Neuf salariés exposés et 9 non-exposés ont participé à l'étude. La seconde entreprise, d'un effectif de 125 personnes, a utilisé 90 t de DEHP durant la semaine de prélèvements. Cinq salariés exposés et 5 non-exposés se sont portés volontaires.

MOULAGE DE POLYMÈRES : 1 ENTREPRISE PARTICIPANTE

Cette entreprise de 90 personnes produit, entre autres, des tubes flexibles pour le secteur de l'automobile. Ceux-ci sont obtenus par moulage, à partir de polymères contenant de 8 à 10 % de DEHP. La température lors des opérations de moulage atteint 140 °C. Neuf salariés exposés et 6 non-exposés ont fait l'objet de prélèvements urinaires.

FABRICATION DE PAPIERS PEINTS VINyliQUES : 1 ENTREPRISE PARTICIPANTE

Dans cette entreprise de 250 salariés, les revêtements muraux fabriqués sont des papiers peints classiques, vinyles plats, vinyles expansés, grainés ou à reliefs. L'impression est réalisée sur des rouleaux de papier brut selon deux procédés :

- l'héliogravure, qui nécessite l'utilisation d'encre d'impression constituées de vernis hydroalcooliques (à base de solvants de type alcool et éthers de propylène glycol) auxquels sont ajoutés des pigments ;
- la sérigraphie, qui utilise des encres avec plastisols, composés par des mélanges de résines PVC et de plastifiants, en l'occurrence du DEHP, ainsi que des charges diverses : carbonate de magnésium, dioxyde de titane, agents gonflants, stabilisants, activateurs d'expansion... Ces plastisols contiennent 20 à 30 % de DEHP.

Les prélèvements urinaires ont concerné 18 salariés exposés et 4 non-exposés professionnellement.

DOSAGES URINAIRES

Les résultats concernant les excréctions urinaires des 3 métabolites dosés chez l'ensemble des salariés participants sont consignés dans le [tableau I](#). Les [tableaux II](#) et [III](#) retranscrivent les résultats des salariés exposés pour chaque entreprise, le [tableau III](#) exprimant les résultats rapportés à la créatinine urinaire. Les histogrammes des [figures 2](#) et [3](#) permettent une comparaison interentreprises des concentrations urinaires de métabolites en fin de poste.

Ces résultats permettent d'estimer la dose interne journalière à l'aide de calculs dont les éléments sont développés dans le paragraphe

Surveillance biologique au phtalate de di-(2-éthylhexyle) (DEHP)
dans six entreprises françaises

Tableau I

CONCENTRATIONS DES MÉTABOLITES URINAIRES DU DEHP DE DÉBUT ET FIN DE POSTE EN $\mu\text{g.L}^{-1}$ ($\mu\text{g.g}^{-1}$ DE CRÉATININE) CHEZ LES SALARIÉS PROFESSIONNELLEMENT ET NON PROFESSIONNELLEMENT EXPOSÉS ; STATISTIQUES DESCRIPTIVES.

		SALARIÉS EXPOSÉS				SALARIÉS TÉMOINS			
		Début de poste n = 262		Fin de poste n = 259		Début de poste n = 143		Fin de poste n = 139	
		$\mu\text{g.L}^{-1}$	($\mu\text{g.g}^{-1}$ de créat.)	$\mu\text{g.L}^{-1}$	($\mu\text{g.g}^{-1}$ de créat.)	$\mu\text{g.L}^{-1}$	($\mu\text{g.g}^{-1}$ de créat.)	$\mu\text{g.L}^{-1}$	($\mu\text{g.g}^{-1}$ de créat.)
MEHP	Moyenne	25,9	(14,6)	55,2	(33,6)	8,1	(7,3)	7,3	(6,8)
	Médiane	12,6	(9,2)	28,7	(17,8)	4,8	(5,8)	4,7	(4,8)
	Moyenne géométrique	11,2	(8,7)	21,4	(16,8)	4,5	(5,1)	4,3	(4,5)
	95 ^e percentile	97,9	(47,2)	240,0	(102,7)	24,3	(20,3)	27,0	(18,0)
	Étendue	0,5-328,0	(0,3-111,0)	0,5-481,0	(0,6-942,0)	0,5-48,1	(0,3-46,2)	0,5-44,6	(0,2-33,8)
5cx-MEPP	Moyenne	77,8	(43,2)	149,0	(83,7)	28,0	(23,6)	23,6	(18,6)
	Médiane	38,6	(29,9)	84,4	(50,0)	15,1	(15,3)	12,4	(11,8)
	Moyenne géométrique	35,4	(27,7)	67,4	(46,6)	12,5	(14,1)	11,6	(12,1)
	95 ^e percentile	306,0	(130,5)	567,0	(277,8)	102,3	(68,4)	101,0	(49,5)
	Étendue	1,0-637,0	(1,7-277,0)	1,0-1410,0	(0,7-924,0)	1,0-361,0	(0,2-314,0)	1,0-272,0	(0,3-173,0)
2-EHA	Moyenne	37,5	(25,8)	144,0	(79,7)	30,3	(36,5)	31,1	(35,4)
	Médiane	20,4	(18,0)	70,6	(50,1)	21,8	(24,4)	20,5	(24,4)
	Moyenne géométrique	24,4	(19,1)	71,5	(49,3)	20,3	(23,0)	21,0	(22,1)
	95 ^e percentile	109,0	(85,0)	479,0	(222,5)	84,9	(103,2)	95,8	(93,2)
	Étendue	2,7-376,0	(1,0-194,0)	2,5-3623,0	(1,0-1021,0)	2,5-273,0	(0,4-342,0)	2,5-281,0	(0,7-502,0)

suivant. Cette dose interne journalière reflète la quantité de DEHP ayant pénétré le corps humain par jour et par kilogramme de poids corporel. La figure 4 représente ces doses calculées pour les salariés de chaque entreprise.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS - DISCUSSION

MISE EN ÉVIDENCE DE SITUATIONS PARTICULIÈRES D'EXPOSITION

Au sein des 5 entreprises d'application de plastisols, de production de « compounds », de moulage de polymères ou de fabrication de papiers peints, les résultats

des dosages urinaires traduisent une exposition des salariés au DEHP. En effet, les médianes des concentrations urinaires de fin de poste des sujets exposés, pour les 3 métabolites, sont très significativement supérieures à celles observées chez les témoins (test de Mann-Whitney, $p < 0,05$). De la même façon, pour les salariés exposés, les concentrations urinaires de fin de poste de travail sont très significativement supérieures à celles de début de poste ($p < 0,05$). À l'inverse, chez les non-exposés, il n'est pas observé de différence significative entre les valeurs de début et fin de poste de travail. Les mêmes résultats sont obtenus en utilisant les valeurs corrigées par la créatinine.

Les résultats précédents ne sont pas observés pour l'entreprise productrice de DEHP où les comparaisons statistiques entre le début et la fin de poste ne sont pas significatives pour le MEHP et le 5cx-MEPP. Cependant, les concentrations urinaires en 2-EHA des salariés exposés sont supérieures à celles relevées chez les témoins et ce, de manière très significative ($p < 0,05$). Il est également constaté, chez les salariés exposés, un accroissement significatif des taux de 2-EHA entre le début et la fin de poste de travail. Ceci peut être lié au procédé de fabrication du DEHP qui expose les travailleurs au 2-éthylhexanol ; une fois absorbé, ce dernier se métabolise en 2-EHA.

↓ Tableau II

➤ CONCENTRATIONS DES MÉTABOLITES URINAIRES DU DEHP DE DÉBUT ET FIN DE POSTE PAR ENTREPRISE ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$).

	Production de DEHP		Application de plastisols		Production de compounds (1)		Production de compounds (2)		Moulage de polymères		Fabrication de papiers peints		
	Début de poste N = 44	Fin de poste N = 43	Début de poste N = 25	Fin de poste N = 25	Début de poste N = 41	Fin de poste N = 41	Début de poste N = 32	Fin de poste N = 31	Début de poste N = 41	Fin de poste N = 41	Début de poste N = 79	Fin de poste N = 78	
MEHP	Moyenne	19,8	15,1	25,2	68,2	29,6	83,1	9,6	23,5	12,3	34,0	41,7	77,7
	Médiane	7,7	5,6	16,1	55,9	18,9	52,0	7,3	17,3	5,4	18,3	22,4	41,9
	Moyenne géométrique	8,5	6,3	15,3	56,4	18,2	57,4	5,1	14,0	5,0	14,7	18,5	42,3
	Étendue	0,5-152,2	0,5-103,5	1,7-98,0	5,3-303,0	2,0-134,4	10,9-467,1	0,5-45,0	0,6-89,8	0,3-100,6	0,3-247,7	0,3-328,2	2,3-481,0
5cx-MEPP	Moyenne	42,3	42,1	73,7	149,7	104,7	237,4	33,0	74,6	31,9	76,3	128,4	232,4
	Médiane	27,7	18,8	37,6	103,7	57,5	166,4	27,0	57,6	15,4	34,3	68,6	134,6
	Moyenne géométrique	25,0	21,0	42,9	82,7	56,6	156,2	16,1	37,3	17,0	38,6	63,1	133,3
	Étendue	1,4-166,0	1,9-219,0	6,2-581,0	18,8-961,0	6,4-617,8	18,6-1320,0	0,5-129,9	1,0-487,9	0,6-122,6	2,1-529,0	2,7-636,9	17,0-1410,0
2-EHA	Moyenne	27,6	65,7	48,7	72,6	56,9	365,1	20,4	64,3	17,4	39,4	47,5	181,1
	Médiane	16,3	39,3	46,3	72,1	23,3	237,6	16,7	44,5	13,7	27,2	31,3	137,1
	Moyenne géométrique	20,6	41,1	38,4	46,6	29,9	186,0	18,3	42,2	14,7	27,3	30,1	133,7
	Étendue	2,7-108,8	10,4-310,7	2,8-163,4	2,5-134,0	2,9-375,6	2,9-3623,0	9,2-73,7	11,6-486,3	5,4-48,2	4,2-219,1	5,5-278,9	17,8-696,2

↓ Tableau III

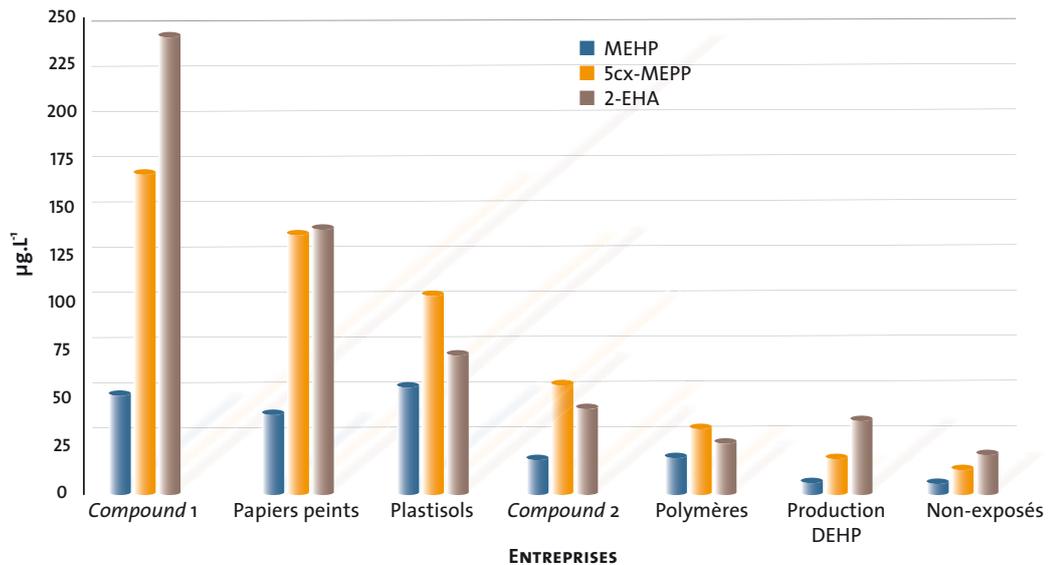
➤ CONCENTRATIONS DES MÉTABOLITES URINAIRES DU DEHP DE DÉBUT ET FIN DE POSTE, AJUSTÉES SUR LA CRÉATININE ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), PAR ENTREPRISE.

	Production de DEHP		Application de plastisols		Production de compounds (1)		Production de compounds (2)		Moulage de polymères		Fabrication de papiers peints		
	Début de poste N = 44	Fin de poste N = 43	Début de poste N = 25	Fin de poste N = 25	Début de poste N = 41	Fin de poste N = 41	Début de poste N = 32	Fin de poste N = 31	Début de poste N = 41	Fin de poste N = 41	Début de poste N = 79	Fin de poste N = 78	
MEHP	Moyenne	11,9	9,2	12,7	51,1	19,2	44,4	7,7	20,5	7,2	16,1	21,1	47,5
	Médiane	6,3	4,9	7,7	41,0	14,5	39,5	6,3	9,6	3,6	12,4	15,5	25,9
	Moyenne géométrique	7,3	5,4	7,4	34,8	16,1	35,9	5,4	10,6	4,0	10,7	13,2	24,9
	Étendue	1,2-77,6	0,6-64,3	0,6-46,6	2,1-187,6	5,3-59,6	7,9-131,6	0,4-32,6	1,6-213,1	0,5-53,8	1,2-90,1	1,3-111,4	1,6-942,2
5cx-MEPP	Moyenne	28,1	28,0	36,0	98,4	61,9	125,8	23,8	58,2	19,6	38,1	64,3	119,2
	Médiane	22,7	14,3	21,4	63,0	44,2	105,1	21,0	26,9	12,1	27,7	50,8	78,6
	Moyenne géométrique	21,6	18,7	20,9	56,6	50,2	97,6	16,2	27,1	13,7	28,0	45,2	78,5
	Étendue	5,5-68,0	3,4-122,3	4,1-276,7	11,1-533,0	18,8-224,3	15,2-371,8	1,6-87,2	2,6-578,8	2,5-68,1	3,5-177,0	3,0-280,4	6,4-924,4
2-EHA	Moyenne	27,8	57,0	22,6	46,7	39,7	169,9	27,3	48,4	13,3	22,7	26,3	90,6
	Médiane	16,1	32,8	15,5	49,5	24,3	136,9	17,1	26,2	12,9	17,5	21,8	72,1
	Moyenne géométrique	18,4	38,3	18,7	31,0	26,5	116,2	18,3	33,6	11,6	19,4	21,6	78,8
	Étendue	0,8-125,3	9,4-286,5	6,8-78,0	0,5-89,4	5,2-194,1	4,5-1020,0	5,8-115,0	13,3-435	4,1-27,5	4,6-76,1	4,2-85,3	25,1-464,8

Surveillance biologique au phtalate de di-(2-éthylhexyle) (DEHP) dans six entreprises françaises

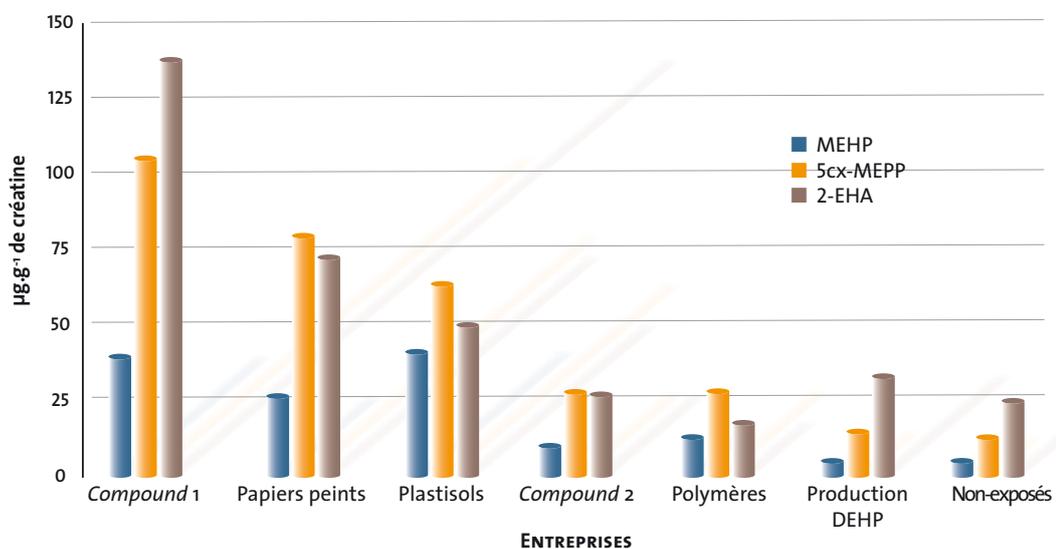
↓ Figure 2

Classement des entreprises par ordre décroissant basé sur les concentrations urinaires en métabolites (médianes de fins de poste), non ajustées sur la créatinine.



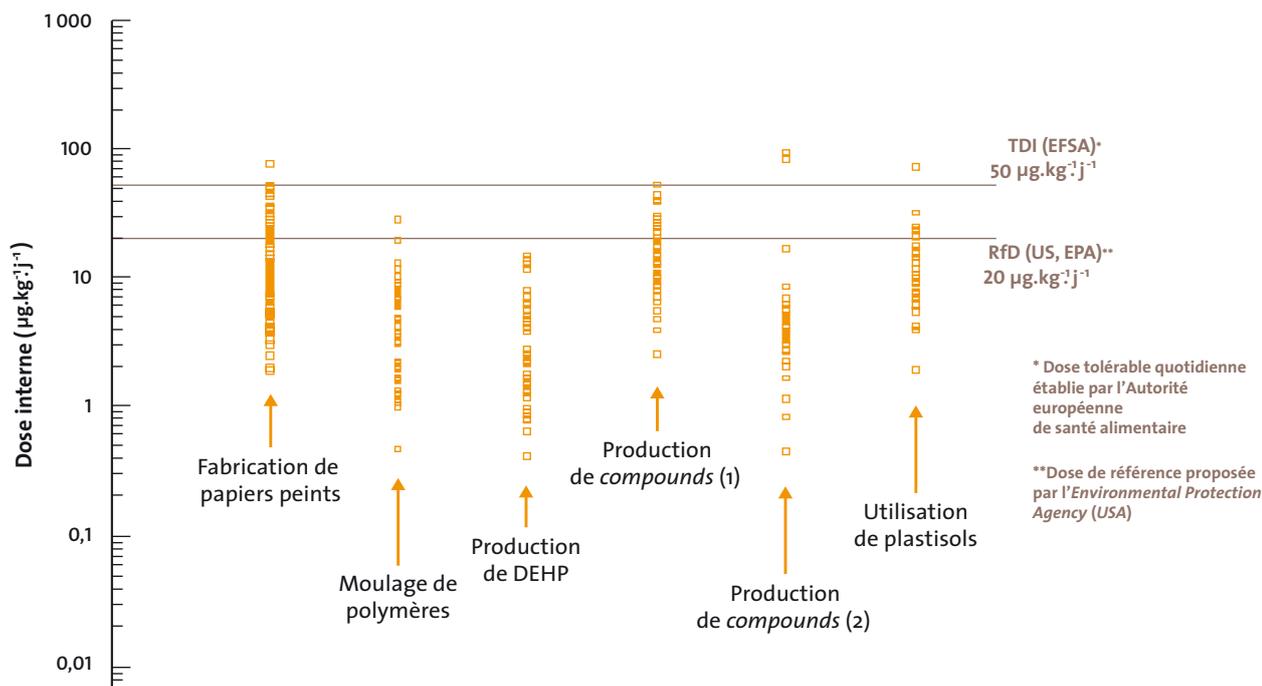
↓ Figure 3

Classement des entreprises par ordre décroissant basé sur les concentrations urinaires en métabolites (médianes de fins de poste), ajustées sur la créatinine.



↓ Figure 4

Doses internes journalières de DEHP ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$) par entreprise, calculées avec les concentrations urinaires de fin de poste de MEHP et de 5cx-MEPP



Par ailleurs, cette étude a permis d'identifier des activités nécessitant des actions de prévention complémentaires. Par exemple, le mélange dans les opérations de fabrication des « compounds » (« compoundage »), la préparation et l'utilisation à chaud des plastisols, le nettoyage des cuves et matériels divers utilisés lors des procédés sont des situations engendrant des excrétions élevées de métabolites chez les salariés exposés. Il en est de même pour le personnel assurant le contrôle qualité dans la production du DEHP, alors que les opérateurs de cette même production, très automatisée, n'engendre pas de situation d'exposition importante. Ces résultats sont probablement liés à l'activité régulière de prélèvement et d'analyse des échantillons de DEHP effectuée dans le cadre de la démarche qualité.

COMPARAISON DES RÉSULTATS AVEC CEUX DISPONIBLES DANS LA LITTÉRATURE

Des concentrations urinaires nettement plus élevées que celles trouvées dans cette étude ont été rapportées dans le domaine professionnel. En 2006, Pan et al. [17], ont publié des concentrations urinaires en métabolites très élevées, obtenues en fin de poste, dans une usine chinoise de production de revêtements de sol en PVC où la médiane et le 95^e percentile atteignaient pour le MEHP respectivement $5\,62,3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ et $5379,7 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de créatinine urinaire. En 2009, Hines et al. [48] ont mis en évidence dans l'industrie du PVC souple, aux États-Unis, des valeurs maximales en fin de poste de $1\,830 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ($1\,480 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de créatinine) pour le MEHP et de $3\,520 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ($2\,030 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de créatinine) pour le 5cx-MEPP. Ces résultats

sont plus élevés que les valeurs maximales de l'étude présentée dans cet article : respectivement $481 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ($942 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de créatinine) pour le MEHP et $1\,410 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ pour le 5cx-MEPP ($924 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de créatinine) (cf. tableau I).

Dans une étude datant de 1993, Dirven et al. [47] ont publié des valeurs médianes de concentrations urinaires en fin de poste de $122 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ pour le MEHP et $103 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ pour le 5cx-MEPP, contre respectivement $17,8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ et $50 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dans l'étude ici présentée. Cependant, Dirven et al. n'ont disposé que d'un faible nombre de valeurs (15 résultats), tandis que leur méthode analytique reposait sur la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), au lieu de la chromatographie liquide haute performance couplée avec la spectrométrie de masse en tandem

Surveillance biologique au phtalate de di-(2-éthylhexyle) (DEHP)
dans six entreprises françaises

(HPLC-MS/MS) – technique plus spécifique – utilisée dans les études récentes.

Par ailleurs, pour l'ensemble des entreprises (cf. *tableau 1*), les rapports entre les médianes des concentrations en 5cx-MEPP et celles en MEHP sont proches de 3, aussi bien en début qu'en fin de poste de travail. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature où l'excrétion des métabolites secondaires est toujours supérieure à celle du MEHP. Hines et al. [48] trouvent des rapports plus élevés, entre 1,5 et 10,5 (7,1 - 16,0 pour les valeurs corrigées par la créatinine). Seuls Dirven et al. [47] ont publié des résultats avec un rapport négatif des concentrations en 5cx-MEPP et en MEHP, mais la méthode analytique utilisée était différente (GC/MS).

D'autre part, il existe une corrélation significative ($p < 0,01$, $r = 0,84$), entre les concentrations log-transformées de MEHP et de 5cx-MEPP ; par exemple pour les fins de poste : $\log_{10}(\text{concentration } 5cxMEPP) = 0,710 + 0,808 \times \log_{10}(\text{concentration MEHP})$. Ces corrélations ont également été rapportées par Barr et al. [51], Koch et al. [37, 38], Hines et al. [48], ce qui est logique puisque le 5cx-MEPP provient de l'oxydation du MEHP. Les valeurs des concentrations de métabolites urinaires relevées chez les salariés non-exposés sont du même ordre de grandeur que les données environnementales de la population générale non professionnellement exposée. En effet, pour le MEHP, les médianes des valeurs de début et fin de journée, 4,8 et 4,7 $\mu\text{g.l}^{-1}$, sont proches des médianes rapportées dans la littérature et comprises entre 0,9 et 4,5 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Koch et al. [38] et Preuss et al. [42], en Allemagne, ont montré en 2003 et 2005, des valeurs médianes plus élevées, proches de 10 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Wittassek et al. [13] ont

observé, au sein d'une population étudiante allemande, durant une période allant de 1988 à 2003, une baisse des concentrations urinaires en MEHP de 9,4 à 5 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Pour le 5cx-MEPP, les médianes des concentrations de 15,1 et 12,4 $\mu\text{g.l}^{-1}$ de début et fin de journée sont cependant proches de la médiane de 15,6 $\mu\text{g.l}^{-1}$ relevée par Silva et al. [41] chez 129 personnes. Ces médianes sont différentes des travaux de Preuss et al. [42] qui mettent en évidence une médiane de 85,5 $\mu\text{g.l}^{-1}$ à partir toutefois de 19 prélèvements. Pour le 2-EHA, les valeurs moyennes trouvées dans cette étude pour les début et fin de journée, respectivement 30,3 et 31,1 $\mu\text{g.l}^{-1}$, diffèrent peu de la concentration moyenne de 56,1 $\mu\text{g.l}^{-1}$ observée chez 28 salariés non exposés par Wahl et al. [52].

CALCUL DE DOSES INTERNES JOURNALIÈRES, COMPARAISONS AVEC LES DOSES DE RÉFÉRENCE PROPOSITION DE VALEURS GUIDES

David et al. [53] et Kohn et al. [54] ont proposé une approximation d'un modèle linéaire pharmacocinétique à deux compartiments permettant de relier les concentrations urinaires à la dose journalière (DJ) (cf. *première formule ci-dessous*).

Cette formule est basée sur la concentration urinaire d'un seul métabolite (CU), mais elle peut être modifiée pour calculer une dose interne journalière à partir de la somme des concentrations urinaires des métabolites [55] (cf. *seconde formule ci-dessous*).

Cette dose interne journalière, exprimée en μg de DEHP par kilogramme de poids corporel et par jour peut ainsi être comparée aux valeurs de références existantes telles la dose quotidienne tolérable (TDI), établie par l'Autorité européenne de sécurité alimentaire (EFSA), fixée à 50 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$, et la dose de référence (RfD) de 20 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ proposée par l'*Environmental Protection Agency* (USA) [56]. La TDI est la seule valeur de référence européenne disponible ; elle dérive, avec un facteur de sécurité de 100, de la dose ne provoquant pas d'effet adverse sur le système reproducteur, établie par Wolfe et Layton [57] chez des rongeurs exposés *in utero* pendant leur développement. Cependant, la TDI européenne actuelle ne prend pas en compte l'effet lié à la perturbation endocrinienne, qui apparaît à de plus faibles doses. Il est intéressant de noter que la RfD américaine a pour objectif de protéger d'un effet critique découvert chez le rat (cancer hépatique) et non de la toxicité pour la reproduction.

$$DJ (\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}) = \frac{CU (\mu\text{g.g}^{-1}) \times CE (\text{mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}) \times Md}{FUE \times 1000 (\text{mg.g}^{-1}) \times Mm}$$

CU = concentration urinaire du métabolite dosé corrigée par la créatinine
CE = taux journalier normalisé d'excrétion de la créatinine (23 $\text{mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ pour les hommes, 18 pour les femmes)
FUE = fraction d'excrétion urinaire du métabolite
Md = masse moléculaire du DEHP
Mm = masse moléculaire du MEHP

$$DJ (\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}) = \frac{\text{Somme des concentrations (mol.g}^{-1}) \text{ CE (mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}) \times \text{DEHP} \times 1000 (\mu\text{g.mg}^{-1})}{FUE}$$

Avec FUE = 0,29 (Σ taux d'excrétion (MEHP+5cx-MEPP) [39])

Les doses internes journalières de DEHP pour chaque salarié exposé, ont été calculées à partir des concentrations urinaires de fin de poste et comparées à la TDI européenne et à la RfD américaine (cf. figure 4).

Dans cette étude, la médiane des doses internes journalières de DEHP calculées sur l'ensemble des valeurs de fin de poste (n=256) est de $7,7 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ (étendue 0,3-196,9), la moyenne géométrique est de $6,80 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$. Pour 43 salariés, les valeurs sont supérieures à $20 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ (16,7 % de l'ensemble). Pour 5 salariés, ces valeurs sont supérieures à $50 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ (2 % de l'ensemble), avec une dose journalière maximale mesurée à $196,9 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$. Dans le domaine industriel du PVC souple, Hines et al. [55] ont calculé des doses journalières internes de DEHP allant de 0,6 à $850 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ avec des moyennes géométriques concernant la fabrication de film PVC et de *compounds*, respectivement de 12 et $17 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$. Ces valeurs sont proches des moyennes géométriques des doses internes journalières calculées dans cette étude pour les entreprises de production de *compounds*, de papiers peints (où des plastisols sont utilisés) et d'application de plastisols avec, respectivement, 13,9, 11,0 et $11,3 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$. Au vu des comparaisons relevées par la figure 4, les entreprises produisant des « *compounds* », utilisant des plastisols (films PVC) ou fabriquant des papiers peints sont les plus exposantes pour les salariés. Il faut noter que ces résultats convergents sont obtenus pour Hines et al. [55] avec la somme de trois métabolites (MEHP, 5oxo-MEHP et 5OH-MEHP), alors que dans cette étude les doses journalières ont été calculées avec la somme de deux métabolites le MEHP et le 5cx-MEPP.

Certains auteurs préfèrent appliquer la formule de David [53] au 95^e percentile des concentrations

urinaires en fin de poste d'un seul métabolite. À partir de la valeur du MEHP ($102,7 \mu\text{g.g}^{-1}$ de créatinine urinaire), la dose interne journalière calculée de DEHP est de $45,4 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$. En utilisant la valeur du 5cx-MEPP ($277,8 \mu\text{g.g}^{-1}$ de créatinine urinaire), cette dose est de $36,9 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$. Ces doses internes journalières sont inférieures à la TDI proposée par l'EFSA mais supérieures à la RfD américaine.

PROPOSITION DE VALEURS GUIDES

Il n'existe pas actuellement de valeurs limites biologiques d'exposition professionnelle au DEHP. Aussi, au vu des résultats de cette étude et afin de ne pas dépasser la TDI établie par l'EFSA, deux valeurs limites biologiques correspondant au 95^e percentile des concentrations urinaires en fin de poste peuvent être proposées :

- MEHP : $100 \mu\text{g.g}^{-1}$ de créatinine ($250 \mu\text{g.L}^{-1}$),
- 5cx-MEPP : $280 \mu\text{g.g}^{-1}$ de créatinine ($500 \mu\text{g.L}^{-1}$).

Toutefois, il est intéressant de prendre en compte d'autres propositions de valeurs guides fondées sur le dosage de deux autres métabolites oxydés du DEHP : le phtalate de mono-(2-éthyl-5-hydroxyhexyle) (5OH-MEHP) et le phtalate de mono-(2-éthyl-5-oxohexyle) (5oxo-MEHP).

Dans le domaine environnemental, la commission allemande de *biomonitoring* humain a recommandé en 2007, une valeur limite de référence de $500 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour la somme des concentrations en métabolites oxydés 5OH-MEHP et 5oxo-MEHP. Cette recommandation est en accord avec la proposition d'Aylward et al. [58] qui développent la notion de « *biomonitoring equivalents* » (BE), les BE étant reliés aux effets sur la santé, en suggérant l'utilisation de la somme des concentrations de

trois métabolites, le MEHP, le 5OH-MEHP, 5oxo-MEHP pour établir une valeur guide. Ils proposent ainsi, de ne pas dépasser la concentration urinaire de $610 \mu\text{g.L}^{-1}$ ($780 \mu\text{g.g}^{-1}$ de créatinine) ; avec l'ajout du 5cx-MEPP, cette valeur atteint $920 \mu\text{g.L}^{-1}$ ($1200 \mu\text{g.g}^{-1}$ de créatinine).

POUR CONCLURE

Cette étude a révélé des expositions avérées au DEHP chez les salariés de l'industrie du PVC souple, en particulier dans le domaine de la préparation des *compounds*, de l'utilisation des plastisols et de la fabrication de papiers peints. Pour certaines activités ou certains postes de travail, des actions de prévention ont été proposées afin de limiter l'exposition des travailleurs.

Grâce au calcul des doses internes journalières, l'exposition des salariés a pu être comparée aux normes européenne (TDI) et américaine (RfD) de dose quotidienne tolérable. Ceci a permis de proposer, en l'absence de valeur limite biologique, deux valeurs guides pour les concentrations urinaires du MEHP ($250 \mu\text{g.L}^{-1}$, $100 \mu\text{g.g}^{-1}$ de créatinine) et du 5cx-MEPP ($500 \mu\text{g.L}^{-1}$, $280 \mu\text{g.g}^{-1}$ de créatinine).

Actuellement, les métabolites urinaires les plus pertinents à doser sont le MEHP, le 5cx-MEPP, le 5OH-MEPP et le 5oxo-MEHP. Le laboratoire SBSO de l'INRS possède aujourd'hui la technique analytique permettant de doser ces deux derniers métabolites, ce qui n'était pas le cas lors de cette étude. Le 2-EHA, métabolite qualifié d'historique, apparaît comme moins spécifique car pouvant provenir d'autres substances chimiques telles le 2-hexylhexanol ou d'une autre source industrielle que le DEHP.



Surveillance biologique au phtalate de di-(2-éthylhexyle) (DEHP) dans six entreprises françaises

La substitution du DEHP par d'autres phtalates (ou autres substances chimiques) est de plus en plus fréquente. L'évaluation de l'exposition professionnelle à ces nouvelles substances est à réaliser. D'autre part, les salariés de l'industrie du PVC souple travaillent dans un environnement où sont présents d'autres produits chimiques, entraînant également la nécessité de quantifier ces multi-expositions. Ces évaluations sont susceptibles de modifier les deux valeurs guides proposées dans cette étude. Enfin, il serait souhaitable d'entreprendre une enquête épidémiologique dans l'industrie du PVC souple, afin de repérer la survenue des effets délétères pour la reproduction en fonction des niveaux d'imprégnation en DEHP et autres phtalates, dans l'objectif de l'établissement de valeurs limites biologiques protectrices pour les salariés des secteurs industriels concernés.

Remerciements

Les auteurs remercient les médecins du travail qui ont permis la réalisation de cette étude : Bouscaillou P., Le Plaideur D., Altmeyer N., Cottin C., Chartier A. et Mécan J., ainsi que tous les salariés ayant prêté leur concours.

Les auteurs déclarent ne pas être en conflit d'intérêt.

POINTS À RETENIR

- La métrologie atmosphérique du DEHP n'est pas adaptée pour évaluer l'exposition aux phtalates, produits peu volatils.
- Certaines activités sont particulièrement exposantes au DEHP : mélange de substances dans les opérations de « *compoundage* » ; préparation et utilisation à chaud des plastisols ; nettoyage des cuves et autres matériels utilisés dans divers procédés ; prélèvements d'échantillons de DEHP dans le cadre des contrôles qualité.
- L'évaluation du risque doit prendre en compte la co-exposition à d'autres substances chimiques.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 | GUESS WL, AUSTIN J, JACOB J – *Drug Intell Clin Pharm.* 1967 ; 1 : 120-27.
- 2 | MARCEL YL, NOEL SP – A plasticizer in lipid extracts of human blood. *Chem Phys Lipids.* 1970 ; 4 (3) : 417-18.
- 3 | JAEGER RJ, RUBIN RJ – Plasticizers from plastic devices: extraction, metabolism, and accumulation by biological systems. *Science.* 1970 ; 170 (3956) : 460-62.
- 4 | BLOUNT BC, SILVA MJ, CAUDILL SP, NEEDHAM LL ET AL. – Levels of seven urinary phthalate metabolites in a human reference population. *Environ Health Perspect.* 2000 ; 108 (10) : 979-82.
- 5 | KOCH HM, ROSSBACH B, DREXLER H, ANGERER J – Internal exposure of the general population to DEHP and other phthalates - determination of secondary and primary phthalate monoester metabolites in urine. *Environ Res.* 2003 ; 93 (2) : 177-85.
- 6 | SILVA MJ, REIDY JA, HERBERT AR, PRAU JL JR ET AL. – Detection of phthalate metabolites in human amniotic fluid. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2004 ; 72 (6) : 1226-31.
- 7 | CALAFAT AM, SLAKMAN AR, SILVA MJ, HERBERT AR ET AL. – Automated solid phase extraction and quantitative analysis of human milk for 13 phthalate metabolites. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2004 ; 805 (1) : 49-56.
- 8 | MORTENSEN GK, MAIN KM, ANDERSSON AM, LEFFERS H ET AL. – Determination of phthalate monoesters in human milk, consumer milk, and infant formula by tandem mass spectrometry (LC-MS-MS). *Anal Bioanal Chem.* 2005 ; 382 (4) : 1084-92.
- 9 | MAIN KM, MORTENSEN GK, KALEVA MM, BOISEN KA ET AL. – Human breast milk contamination with phthalates and alterations of endogenous reproductive hormones in infants three months of age. *Environ Health Perspect.* 2006 ; 114 (2) : 270-76.
- 10 | WITTASSEK M, ANGERER J, KOLOSSA-GEHRING M, SCHÄFER SD ET AL. – Fetal exposure to phthalates—a pilot study. *Int J Hyg Environ Health.* 2009 ; 212 (5) : 492-98.
- 11 | LORZ PM, TOWAE FK, ENKE W, JÄCKH R, BHARGAVA N – Phthalic acid and derivatives. In: Elvers B (Ed) - Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry, Weinheim : Wiley-VCH ; 2011.
- 12 | CADOGAN D – Plasticisers: an update, European council for plasticisers intermediate. 2006 Oslo 8-9 november, plasttesriske dager.

- 13 | WITTASSEK M, WIESMÜLLER GA, KOCH HM, ECKARD R ET AL. – Internal phthalate exposure over the last two decades - a retrospective human biomonitoring study. *Int J Hyg Environ Health*. 2007 ; 210 (3-4) : 319-33.
- 14 | GRAY LE JR, OSTBY J, FURR J, PRICE M ET AL. – Perinatal exposure to the phthalates DEHP, BBP, and DINP, but not DEP, DMP or DOTP, alters sexual differentiation of the male rat. *Toxicol Sci*. 2000 ; 58 (2) : 350-65.
- 15 | STROHEKER T, CABATON N, NOURDIN G, RÉGNIER JF ET AL. – Evaluation of anti-androgenic activity of di-(2-ethylhexyl) phthalate. *Toxicology*. 2005 ; 208 (1) : 115-21.
- 16 | KORTENKAMP A – Introduction: Endocrine disruptors-exposure assessment, novel end points and low-dose and mixture effects. *Environ Health Perspect*. 2007 ; 115 (Suppl 1) : 7.
- 17 | PAN G, HANAOKA T, YOSHIMURA M, ZHANG S ET AL. – Decreased serum free testosterone in workers exposed to high levels of di-n-butyl phthalate (DBP) and di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP): a cross-sectional study in China. *Environ Health Perspect*. 2006 ; 114 (11) : 1643-48.
- 18 | CHAUVIGNÉ F, MENUET A, LESNÉ L, CHAGNON MC ET AL. – Time - and dose-related effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate and its main metabolites on the function of the rat fetal testis in vitro. *Environ Health Perspect*. 2009 ; 117 (4) : 515-21.
- 19 | LAMBROT R, MUCZYNSKI V, LÉCUREUIL C, ANGENARD G ET AL. – Phthalates impair germ cell development in the human fetal testis *in vitro* without change in testosterone production. *Environ Health Perspect*. 2009 ; 117 (1) : 32-37.
- 20 | EUROPEAN CHEMICALS BUREAU – European Union Risk Assessment Report: Bis(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP). EUR 23384 EN. Luxembourg : Office for Official Publications of the European Communities ; 2008 : 588 p
- 21 | NTP-CERHR Monograph on the potential human reproductive and developmental effects of Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP). NIH Publication n° 06-4476. Alexandria : NTP CERHR ; 2006 : 308 p
- 22 | Décret n° 2001-97 du 1^{er} février 2001 établissant les règles particulières de prévention des risques cancérigènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction et modifiant le Code du travail (deuxième partie : Décrets en Conseil d'Etat). *J Off Répub Fr*. 2001 ; 29, 3 février 2001 : 1866-68.
- 23 | Di(2-ethylhexyl) phthalate. In: Some industrial chemicals. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks to Humans. Volume 77. Lyon : IARC ; 2000 : 41-148, 563 p.
- 24 | MELNICK RL – Is peroxisome proliferation an obligatory precursor step in the carcinogenicity of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP)? *Environ Health Perspect*. 2001 ; 109 (5) : 437-42.
- 25 | LATINI G – Monitoring phthalate exposure in humans. *Clin Chim Acta*. 2005 ; 361 (1-2) : 20-29.
- 26 | HAUSER R, CALAFAT AM – Phthalates and human health. *Occup Environ Med*. 2005 ; 62 (11) : 806-18.
- 27 | HEUDORF U, MERSCH-SUNDERMANN V, ANGERER J – Phthalates: toxicology and exposure. *Int J Hyg Environ Health*. 2007 ; 210 (5) : 623-34.
- 28 | WITTASSEK M, ANGERER J – Phthalates : metabolism and exposure. *Int J Androl*. 2008 ; 31 (2) : 131-38.
- 29 | DOELMAN CJ, BORM PJ, BAST A – Plasticisers and bronchial hyperreactivity. *Lancet*. 1990 ; 335 (8691) : 725.
- 30 | CIPOLLA C, BELISARIO A, SASSI C, AULETTI G ET AL. – Asma occupazionale da diocil-ftalato in una addetta alla produzione di tappi per bottiglia. *Med Lav*. 1999 ; 90 (3) : 513-18.
- 31 | OIE L, HERSOUG LG, MADSEN JO – Residential exposure to plasticizers and its possible role in the pathogenesis of asthma. *Environ Health Perspect*. 1997 ; 105 (9) : 972-78.
- 32 | HOPPIN JA, ULMER R, LONDON SJ – Phthalate exposure and pulmonary function. *Environ Health Perspect*. 2004 ; 112(5) : 571-74.
- 33 | ALBRO PW, HASS JR, PECK CC, ODAM DG ET AL. – Identification of the metabolites of di-(2-ethylhexyl) phthalate in urine from the African green monkey. *Drug Metab Dispos*. 1981 ; 9 (3) : 223-25.
- 34 | PECK CC, ALBRO PW, HASS JR, ODOM DG ET AL. – Metabolism and excretion of the plasticizer di-2-ethylhexyl phthalate in man. *Clin Res*. 1978 ; 26 : 101A.
- 35 | SCHMID P, SCHLATTER C – Excretion and metabolism of di(2 ethylhexyl)phthalate in man. *Xenobiotica*. 1985 ; 15 (3) : 251-56.
- 36 | ANDERSON WA, CASTLE L, SCOTTER MJ, MASSEY RC ET AL. – A biomarker approach to measuring human dietary exposure to certain phthalate diesters. *Food Addit Contam*. 2001 ; 18(12) : 1068-74.
- 37 | KOCH HM, GONZALEZ-RECHE LM, ANGERER J – On-line clean-up by multidimensional liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry for high throughput quantification of primary and secondary phthalate metabolites in human urine. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2003 ; 784 (1) : 169-82.
- 38 | KOCH HM, ROSSBACH B, DREXLER H, ANGERER J – Internal exposure of the general population to DEHP and other phthalates - determination of secondary and primary phthalate monoester metabolites in urine. *Environ Res*. 2003 ; 93 (2) : 177-85.
- 39 | ANDERSON WA, CASTLE L, HIRD S, JEFFERY J ET AL. – A twenty-volunteer study using deuterium labelling to determine the kinetics and fractional excretion of primary and secondary urinary metabolites of di-2-ethylhexylphthalate and di-isobutylphthalate. *Food Chemical Toxicol*. 2011 ; 49 (9) : 2022-29.
- 40 | KOCH HM, BOLT HM, PREUSS R, ANGERER J – New metabolites of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in human urine and serum after single oral doses of deuterium-labelled DEHP. *Arch Toxicol*. 2005 ; 79 (7) : 367-76.
- 41 | SILVA MJ, MALEK NA, HODGE CC, REIDY JA ET AL. – Improved quantitative detection of 11 urinary

Surveillance biologique au phtalate de di-(2-éthylhexyle) (DEHP) dans six entreprises françaises

phthalate metabolites in humans using liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2003 ; 789 (2) : 393-404.

42 | PREUSS R, KOCH HM, ANGERER J – Biological monitoring of the five major metabolites of di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in human urine using column-switching liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2005 ; 816 (1-2) : 269-80.

43 | PROTOIS JC, BLACHÈRE V, MORÈLE Y – Évaluation de l'exposition professionnelle au phtalate de di-(2-éthylhexyle) (DEHP). Note documentaire ND 2266. *Hyg Secur Trav. Cah Notes Doc.* 2007 ; 206 : 51-58.

44 | MILKOV LE, ALDYREVA MV, POPOVA TB, LOPUKHOVA KA ET AL. – Health status of workers exposed to phthalate plasticizers in the manufacture of artificial leather and films based on PVC resins. *Environ Health Perspect.* 1973 ; 3 : 175-78.

45 | THIESS AM, FLEIG I – Chromosomenuntersuchungen bei Mitarbeitern mit Exposition gegenüber Di-2-äthylhexylphthalat (DOP). *Zentralbl Arbeitsmed.* 1978 ; 12 : 351-55.

46 | NIELSEN J, ÅKESSON B, SKERFVING S – Phthalate ester exposure-air levels and health of workers processing polyvinylchloride. *Am Ind Hyg Assoc J.* 1985 ; 46 (11) : 643-47.

47 | DIRVEN HA, VAN DEN BROEK PH, JONGENELEN FJ – Determination of four metabolites of the plasticizer di(2-ethylhexyl)phthalate in human urine samples. *Int Arch Occup Environ Health.* 1993 ; 64 (8) : 555-60.

48 | HINES CJ, NILSEN HOPF NB, DEDDENS JA, CALAFAT AM ET AL. – Urinary phthalate metabolite concentrations among workers in selected industries : a pilot biomonitoring study. *Ann Occup Hyg.* 2009 ; 53 (1) : 1-17.

49 | GAUDIN R, MARSAN P, ROBERT A, DUCOS P ET AL. – Biological monitoring of occupational exposure to di(2-ethylhexyl)phthalate : survey of workers exposed to plastisols.

Int Arch Occup Environ Health. 2008 ; 81 (8) : 959-66.

50 | GAUDIN R, MARSAN P, NDAW S, ROBERT A ET AL. – Biological monitoring of exposure to di(2-ethylhexyl)phthalate in six French factories : a field study. *Int Arch Occup Environ Health.* 2011 ; 84 (5) : 523-31.

51 | BARR DB, SILVA MJ, KATO K, REIDY JA ET AL. – Assessing human exposure to phthalates using monoesters and their oxidized metabolites as biomarkers. *Environ Health Perspect.* 2003 ; 111 (9) : 1148-51. 52 | WAHL HG, HONG Q, STÜBE D, MAIER ME ET AL. – Simultaneous analysis of the di(2-ethylhexyl) phthalate metabolites 2-ethylhexanoic acid, 2-ethyl-3-hydroxyhexanoic acid and 2-ethyl-3-oxohexanoic acid in urine by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 2001 ; 758 (2) : 213-19.

53 | DAVID RM – Exposure to phthalate esters. *Environ Health Perspect.* 2000 ; 108 (10) : A440. Erratum in: *Environ Health Perspect.* 2000 ; 108 (11) : A495.

54 | KOHN MC, PARHAM F, MASTEN SA, PORTIER CJ, SHELBY MD, BROCK JW,

NEEDHAM LL – Human exposure estimates exposure for phthalates. *Environ Health Perspect.* 2000 ; 108 (10) : A440-42.

55 | HINES CJ, HOPF NB, DEDDENS JA, SILVA MJ ET AL. – Estimated daily intake of phthalates in occupationally exposed groups. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 2011 ; 21 (2) : 133-41.

56 | US ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – Di(2-ethylhexyl)phthalate) (DEHP). US Environmental protection agency, 1991 (www.epa.gov/iris/subst/0014.htm#reforal).

57 | WOLFE GW, LAYTON KA – Multigeneration reproduction toxicity study in rats: multigenerational reproductive assessment by continuous breeding when administered to Sprague-Dawley rats in the diet. TRC Study No. 7244-200. 2003 ; TherImmune Research Corporation, Gaithersbury, Maryland.

58 | AYLWARD LL, HAYS SM, GAGNÉ M, KRISHNAN K – Derivation of Biomonitoring Equivalents for di(2-ethylhexyl) phthalate (CAS No 117-81-7). *Regul Toxicol. Pharmacol.* 2009 ; 55 (3) : 249-58.