

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Valeurs limites d'exposition en milieu professionnel

Évaluation des indicateurs
biologiques d'exposition pour
le styrène en vue de la construction
de valeurs limites biologiques

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Octobre 2014

Édition scientifique



anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Valeurs limites d'exposition en milieu professionnel

Évaluation des indicateurs
biologiques d'exposition pour
le styrène en vue de la construction
de valeurs limites biologiques

Avis de l'Anses

Rapport d'expertise collective

Octobre 2014

Édition scientifique

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

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

Evaluation des indicateurs biologiques d'exposition pour le styrène en vue
de la construction de valeurs limites biologiques

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 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 rendus publics.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

L'Afsset, devenue ANSES en juillet 2010, a été saisie le 12 juin 2007 par la direction générale du travail afin de mener les travaux d'expertise nécessaires à la fixation de valeurs limites d'exposition professionnelle pour le styrène. La France dispose à travers une circulaire¹ de 1985 d'une VLEP-8h² indicative pour le styrène de 215 mg.m⁻³ (50 ppm).

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

Cette saisine a été confiée au Comité d'Experts Spécialisés « Expertise en vue de la fixation de valeurs limites à des agents chimiques en milieu professionnel » (CES VLEP) qui, en juin 2010 a rendu un rapport d'expertise collective recommandant³ :

- la fixation d'une VLEP-8h de 100 mg.m⁻³ afin de protéger d'éventuels effets neurotoxiques ;
- la fixation d'une VLCT-15min de 200 mg.m⁻³ afin d'éviter les pics d'exposition susceptibles d'induire une irritation des muqueuses du système respiratoire ;
- l'attribution de la mention « peau ».

¹ Circulaire du 5 mars 1985 modifiant et complétant la circulaire du 19 juillet 1982 modifiée relative aux valeurs admises pour les concentrations de certaines substances dangereuses dans l'atmosphère des lieux de travail

² Valeur limite d'exposition sur 8 heures

³ Anses. (2010). Evaluation des effets sur la santé et des méthodes de mesure des niveaux d'exposition sur le lieu de travail pour le styrène. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, Maisons-Alfort. 87 p.

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

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise collective a été réalisée par le comité d'experts spécialisés (CES) « Expertise en vue de la fixation de valeurs limites à des agents chimiques en milieu professionnel » (CES-VLEP) ».

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

Le présent avis se fonde pour les aspects scientifiques sur le rapport intitulé « Expertise collective en vue de la fixation de valeurs limites d'exposition à des agents chimiques en milieu professionnel » sur l'évaluation des indicateurs biologiques d'exposition pour le styrène en vue de la construction de valeurs limites biologiques » (mars 2014).

Le CES VLEP a adopté la synthèse et les conclusions de l'expertise collective le 13 mars 2012. Le rapport et la note d'expertise collective ont fait l'objet d'une consultation publique du 10 décembre 2013 au 10 février 2014. Les personnes ou organismes ayant contribué à la consultation publique sont listés à l'annexe 2 du rapport d'expertise collective. Les commentaires reçus ont été examinés et discutés par le CES VLEP qui a adopté le rapport d'expertise collective et la note d'expertise collective lors de la réunion du 18 mars 2014.

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).

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

Choix des indicateurs biologiques d'exposition

Cinq indicateurs biologiques d'exposition au styrène ont été identifiés dans la littérature scientifique : la substance elle-même dans le sang et l'urine et certains de ses métabolites pouvant être mesurés dans les urines (l'acide mandélique, l'acide phénylglyoxylique et la somme de ces deux métabolites). Les avantages et limites de chaque indicateur biologique ont été étudiés et ce sont donc le styrène urinaire et les acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires additionnés qui ont été retenus comme pertinents.

Il est recommandé de réaliser les prélèvements en fin de poste à des fins de comparaison des concentrations mesurées aux valeurs limites biologiques (VLB) recommandées. Le jour de la semaine ne présente pas d'importance pour le styrène urinaire mais il faut noter que sa mesure sera le reflet de l'exposition de la journée même.

La somme des acides mandélique et phénylglyoxylique permet de refléter les expositions d'une semaine entière. C'est ainsi que la VLB a d'ailleurs été calculée. Il est donc recommandé de réaliser les prélèvements en fin de semaine de travail.

Certaines modalités spécifiques de prélèvement et de stockage ont été identifiées.

Construction de valeurs limites biologiques et choix de valeurs biologiques de référence

Lors de l'évaluation des effets, les experts du CES VLEP ont construit la VLEP-8h sur la base des atteintes du système nerveux central rapportées chez l'Homme (études en milieu professionnel).

Les études chez l'Homme disponibles n'ont pas permis d'établir une relation dose-réponse entre les concentrations urinaires de styrène ou la somme des acides mandélique et phénylglyoxylique et les effets sanitaires (altération de l'audition et dyschromatopsie).

En revanche, les études menées en milieu professionnel ont permis de mettre en relation les concentrations atmosphériques de styrène et les concentrations des indicateurs biologiques d'exposition retenus. Des VLB basées sur une exposition à la VLEP-8h ont ainsi pu être recommandées pour ces biomarqueurs.

En population générale, à défaut de données en France, c'est une étude italienne qui a été retenue pour définir une valeur biologique de référence pour la somme des acides mandélique et phénylglyoxylique (aucune donnée concernant le styrène urinaire en population générale n'a été identifiée). Ces valeurs correspondent à des niveaux d'imprégnation élevés (97^{ème} percentile) mesurés dans la population générale.

Les experts du CES VLEP ont également rapporté que la consommation d'alcool et la prise de certains médicaments pouvaient inhiber le métabolisme et ainsi être sources d'interférence dans l'interprétation des résultats des mesures. Les co-expositions à certains solvants rencontrés en milieu de travail peuvent également influencer les résultats des mesures.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

Conformément aux conclusions de son Comité d'Experts Spécialisés (CES) « Expertise en vue de la fixation de valeurs limites à des agents chimiques en milieu professionnel », l'Anses recommande le suivi du styrène urinaire et de la somme des acides mandéliques et phénylglyoxyliques urinaires.

L'Anses recommande les valeurs limites biologiques (VLB) suivantes :

- La VLB recommandée pour le styrène urinaire est de 40 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Les prélèvements doivent être réalisés en fin de poste indépendamment du jour de la semaine (reflet de l'exposition du jour même).
- La VLB recommandée pour la somme des acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires (en fin de poste) est de 600 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de créatinine. Les prélèvements doivent être réalisés en fin de semaine et en fin de poste (reflet de l'exposition de la semaine).

La valeur biologique de référence proposée pour la somme des acides mandélique et phénylglyoxylique (mesurée dans l'urine) est de 3 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de créatinine.

Marc Mortureux

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

**Evaluation des indicateurs biologiques d'exposition pour le styrène en vue de la
construction de valeurs limites biologiques**

**Mission permanente VLEP
Saisine n°2007-SA-0429**

RAPPORT d'expertise collective

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

18 mars 2014

Mots clés

Valeurs limites biologiques, indicateurs biologiques d'exposition, valeurs limites, niveaux d'exposition, milieu professionnel, agents chimiques, expertise, styrène, acide phénylglyoxylique, acide mandélique, solvant organique

Présentation des intervenants

Préambule : Les experts externes, membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

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

Président

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

Membres

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

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

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

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

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

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

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

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

ADOPTION DU RAPPORT POUR CONSULTATION PAR LE COMITE D'EXPERTS SPECIALISE « EXPERTISE EN VUE DE LA FIXATION DE VALEURS LIMITEES A DES AGENTS CHIMIQUES EN MILIEU PROFESSIONNEL » (2010 -2013)

Le rapport d'expertise collective ayant fait l'objet de la consultation publique a été adopté par le CES suivant :

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 SPECIALISE « EXPERTISE EN VUE DE LA FIXATION DE VALEURS LIMITEES A DES AGENTS CHIMIQUES EN MILIEU PROFESSIONNEL » (2014 – 2016)**Président**

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

Membres

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Dominique BRUNET

Mme Marie-Laure COINTOT

Mme Mounia EL YAMANI¹

Secrétariat administratif

Mme Séverine BOIX

¹ *Travaille à l'INVS depuis le 01/02/2013*

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	1
Expertise collective : synthèse de l'argumentaire et conclusions	9
Préambule	23
Abréviations	24
1 Identification de la substance	25
2 Données de cinétique et de toxicodynamie relatives à la substance chimique en cause	26
2.1 Absorption	26
2.1.1 Cutanée	26
2.1.2 Pulmonaire	26
2.1.3 Digestive	26
2.2 Distribution	26
2.3 Métabolisation	27
2.4 Excrétion	29
3 Identification des différents indicateurs biologiques d'exposition et indicateurs biologiques d'effets associés à la substance chimique	31
3.1 Indicateurs biologiques d'exposition disponibles	31
3.1.1 Informations générales	31
3.1.2 Avantages et limites des indicateurs biologiques d'exposition identifiés	37
3.1.3 Choix des indicateurs biologiques d'exposition identifiés comme pertinents pour le suivi biologique des expositions professionnelles	40
3.2 Indicateurs biologiques d'effets disponibles	41
4 Informations concernant les indicateurs biologiques d'exposition identifiés comme pertinents pour la surveillance biologique des professionnels exposés	42
4.1 Données bibliographiques sur la corrélation entre les niveaux biologiques et les effets sur la santé pour chaque IBE identifié	42
4.1.1 Styrène urinaire	42
4.1.2 Somme des concentrations des acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires	42
4.2 Données bibliographiques sur la corrélation entre l'exposition (atmosphérique et cutanée) et les niveaux biologiques observés pour chaque IBE identifié	43
4.2.1 Styrène urinaire	43
4.2.2 Somme des acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires	45
4.3 Facteurs pouvant influencer l'interprétation des résultats	47
4.4 Modalités de prélèvement	47
4.4.1 Moment du prélèvement	47
4.4.2 Méthodes de prélèvement	48
4.4.3 Conservation, transport des prélèvements	48
5 Biométrie	49

6	Construction des VLB et choix des valeurs biologiques de référence	51
6.1	Valeurs limites biologiques et valeurs biologiques de référence retenues	51
6.1.1	Styrène urinaire	52
6.1.2	Acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires.....	53
6.2	Modalités et précautions particulières concernant les prélèvements biologiques pour chaque IBE retenu	54
6.3	Données pouvant affecter l'interprétation des résultats	54
7	Conclusions de l'expertise collective	55
8	Références bibliographiques	56
Annexe 1 : Données disponibles pour acides mandélique urinaire et phénylglyoxylique urinaire pris séparément		
		63
Annexe 2 : Consultation publique.....		
		67
Annexe 3 : Suivi des actualisations du rapport		
		68

Expertise collective : synthèse de l'argumentaire et conclusions

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

Evaluation des indicateurs biologiques d'exposition pour le styrène en vue de la construction de valeurs limites biologiques

[N° CAS : 100-42-5]

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

Présentation de la question posée

L'Afsset, devenue ANSES en juillet 2010, a été saisie le 12 juin 2007 par la direction générale du travail afin de mener les travaux d'expertise nécessaires à la fixation de valeurs limites d'exposition professionnelle pour le styrène. La France dispose à travers une circulaire² de 1985 d'une VLEP-8h indicative pour le styrène de 215 mg.m⁻³ (50 ppm).

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

Cette saisine a été confiée au CES VLEP de l'agence qui, en juin 2010, a rendu un rapport où il était recommandé pour le styrène :

- de fixer une VLEP-8h de 100 mg.m⁻³ ;
- de fixer une VLCT de 200 mg.m⁻³ ;
- d'attribuer la « mention peau » ;

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

Contexte scientifique

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

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

²

Circulaire du 5 mars 1985 modifiant et complétant la circulaire du 19 juillet 1982 modifiée relative aux valeurs admises pour les concentrations de certaines substances dangereuses dans l'atmosphère des lieux de travail

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

Définitions du CES VLEP

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

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

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

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

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

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

Organisation de l'expertise

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

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

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

Prévention des risques de conflits d'intérêts

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques *via* le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

Description de la méthode

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

Le rapport de synthèse relatif aux indicateurs biologiques d'exposition au styrène est issu d'éléments bibliographiques prenant en compte la littérature scientifique parue sur cette substance jusqu'en 2011. La recherche bibliographique a été effectuée dans les bases de données suivantes : Medline, Toxline, HSDB, ToxNet (CCRIS, GENE-TOX, IRIS), ScienceDirect. Le rapporteur a réévalué les articles source ou les rapports cités en référence à chaque fois qu'il l'a estimé nécessaire ou que le CES lui en a fait la demande.

Le rapport ainsi que la synthèse et les conclusions de l'expertise collective ont été adoptées par le CES « Expertise en vue de la fixation de valeurs limites à des agents chimiques en milieu professionnel » (mandature 2010 - 2013) le 13 mars 2012.

Ce rapport et les conclusions ont fait l'objet d'une consultation publique du 10/12/2013 au 10/02/2014. La liste des personnes ou organismes ayant contribué à la consultation publique sont listés en annexe 2. Les commentaires reçus ont été examinés et discutés par le CES VLEP (mandature 2014 - 2016) qui a adopté cette version le 18 mars 2014.

Résultat de l'expertise collective

Introduction

Environ une centaine d'articles scientifiques ou rapports ont été retenus pour l'évaluation des données de suivi biologique du styrène recensés dans la base de données *Medline* ou sur des sites spécifiques à partir des mots clés suivants :

- styrene, biomarker, biomonitoring, mandelic acid, phenylglyoxylic acid, urine, blood, analysis, method, GC, HPLC

Données de toxicocinétique

L'absorption percutanée de vapeur de styrène est faible avec une proportion variant de 0,1 à 5% de l'absorption respiratoire estimée (Riihimaki et Pfaffli, 1978 ; Wiczorek, 1985). Sous forme liquide, la vitesse d'absorption du styrène sur les mains est de l'ordre de $1 \pm 0,5 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$ (Berode et Droz, 1985).

Les études expérimentales menées chez l'humain et chez l'animal ont montré que l'absorption pulmonaire est rapide et que son taux varie entre 66 et 93% (Engstrom et al., 1978 ; Cohen et al., 2002). Dans l'interprétation des résultats, l'activité physique doit être prise en compte puisque l'augmentation de la ventilation alvéolaire entraîne l'accroissement de l'absorption pulmonaire du styrène (Bergert et Nestler, 1991 ; Wigaeus et al., 1983 ; Löf et al., 1986a ; Truchon et al., 2009).

Aucune donnée sur l'absorption du styrène n'existe chez l'homme par ingestion.

Le styrène inhalé est largement distribué dans tous les tissus et les organes (muscles, cœur, foie, reins, poumons, rate, cerveau). Les concentrations les plus élevées sont généralement retrouvées dans les tissus adipeux et une partie du styrène peut s'y stocker provisoirement (Vyskocil et al., 1997a ; IARC 2002 ; INRS 2006 ; ATSDR 2007 ; INERIS 2008 ; Engstrom et al., 1978). La clairance du styrène dans le sang se fait de manière biphasique, avec une première phase rapide (demi-vie de 0,58 heures) et une phase lente (demi-vie de 13 heures), ce qui indique une toxicocinétique à deux compartiments.

La voie métabolique primaire correspond à une oxydation sous la dépendance du cytochrome P-450 en styrène 7,8-oxyde composé au potentiel génotoxique reconnu (Vodicka et al., 2006). Le styrène 7,8-oxyde est majoritairement hydrolysé par l'époxyde hydrolase des microsomes (mEH) pour former du styrène glycol peu stable et rapidement transformé sous l'action de l'alcool déshydrogénase et de l'aldéhyde déshydrogénase en acide mandélique, qui peut lui-même donner naissance à l'acide phénylglyoxylique. L'acide mandélique est le principal métabolite du styrène et représente 85% des

métabolites urinaires éliminés après une exposition de huit heures et les acides mandélique et phénylglyoxylique représentent 95% des métabolites du styrène (Ong et al., 1994). Il faut signaler que la consommation d'alcool inhibe (surface sous la courbe de la masse excrétée des métabolites plus faible) et ralentit le métabolisme du styrène en ses acides mandélique et phénylglyoxylique (Berode et al., 1986 ; Cerny et al., 1990).

D'autres métabolites minoritaires peuvent être produits par liaison du styrène 7,8-oxyde avec le glutathion pour former des acides phénylhydroxyéthylmercapturiques. (Sumner et al., 1994 ; Lauwerys et al., 2007). Les acides mercapturiques ne représenteraient que 1% de la quantité totale de styrène absorbé (De Rooij et al., 1998). Plusieurs auteurs ont examiné la possibilité d'utiliser les acides mercapturiques urinaires comme indicateurs biologiques d'exposition. Ces biomarqueurs spécifiques du styrène sont bien corrélés à l'intensité de l'exposition (Ghittori et al., 1997 ; Maestri et al., 1997a ; Maestri et al., 1997b). Toutefois, le dosage urinaire des acides phénylhydroxyéthylmercapturiques spécifiques n'est pas reconnu comme méthode utilisable en routine.

Plusieurs études ont montré qu'une proportion se situant entre 0,7 et 4,4% de la dose absorbée est éliminée sous forme inchangée dans l'air exhalé (IARC 1994 ; Vyskocil et al., 1997b). Les fractions respectives de styrène non métabolisé excrété dans les urines et par la sueur seraient inférieures à 1% (INRS, 2006).

Les paramètres cinétiques de l'élimination du styrène et de ses métabolites sont synthétisés dans le tableau suivant.

Synthèse des données toxicocinétiques de l'excrétion du styrène et de ses métabolites

	Voie d'élimination	% d'élimination par cette voie	½ vie d'élimination	Références
Substance mère				
Styrène	Air expiré	0,7 - 4,4% 0,7 - 2,2% 2,6%	Biphasique : 13 - 52 minutes et 4 - 20 heures Une demi-vie apparente prolongée jusqu'à 3 jours peut survenir en relation avec la masse adipeuse	INRS, 2006 INERIS, 2008 ATSDR, 2007 ACGIH, 2007
	Urine	< 1%		INRS, 2006
	Sueur	< 1%		INRS, 2006
Métabolites				
Acide mandélique	Urine	85% de la dose absorbée	Biphasique : 4 - 9 h et 17 - 26 h	INRS, 2006 ACGIH, 2007 ATSDR, 2007
Acide phénylglyoxylique	Urine	10% de la dose absorbée	Biphasique : 8 - 10 heures (+phase d'élimination plus lente)	INRS, 2006 ACGIH, 2007
Somme des acides phénylhydroxyléthyl-mercapturiques	Urine	< 1%		INRS, 2006 ATSDR, 2007
2-Vinylphénol	Urine	< 1%		INRS, 2006 ATSDR, 2007
4-Vinylphénol	Urine	< 1%		INRS, 2006 ATSDR, 2007
Acide hippurique	Urine	< 1%		INRS, 2006

Choix des indicateurs biologiques d'exposition

Pour le styrène, cinq IBE sont disponibles et bien documentés. Ce sont : le styrène dans l'urine, le styrène dans le sang, le styrène dans l'air expiré, l'acide mandélique dans l'urine et l'acide phénylglyoxylique dans l'urine. La somme des deux acides (acide mandélique et acide phénylglyoxylique) est aussi reconnu comme indicateur biologique d'exposition très intéressant.

En raison de leur spécificité et de leur bonne corrélation avec l'exposition atmosphérique, les trois IBE qui consistent à doser le styrène inchangé dans l'air expiré, le sang ou l'urine, sont théoriquement des biomarqueurs de choix et fournissent un niveau d'information quant à l'exposition assez comparable.

Cependant, en raison des inconvénients liés aux modalités de transport et de conservation des prélèvements (reproductibilité des dosages), les dosages du styrène dans l'air expiré ne peuvent raisonnablement pas être proposés pour le suivi biologique de travailleurs exposés à ce solvant. De même, des difficultés d'ordre pré-analytique (transfert du sang dans les flacons d'analyse et coagulation du sang lors du chauffage de l'échantillon requis pour l'injection de l'espace de tête) et de l'invasivité des prélèvements font que le dosage du styrène dans le sang n'a pas été retenu comme IBE pertinent. Conformément aux usages de la surveillance biologique de l'exposition professionnelle qui veut que lorsque le choix d'un IBE tout aussi valable existe, dans la mesure où le dosage du styrène dans le sang ne présente pas plus d'avantage (spécificité, sensibilité) que le dosage du styrène urinaire, l'utilisation de prélèvement de sang à des fins de surveillance biologique courante n'est pas recommandée pour des raisons d'invasivité du prélèvement. Parmi les dosages proposés du styrène dans un milieu biologique, c'est donc le **dosage du styrène urinaire qui sera retenu comme pertinent**.

Les acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires sont aussi pertinents non seulement parce qu'ils représentent à eux seuls plus de 90% de la masse de solvant absorbé, mais aussi en raison de leur bonne corrélation avec l'exposition, de leur demi-vie de plusieurs heures permettant ainsi un prélèvement en fin de poste. Le fait que ces indicateurs soient bien documentés et largement utilisés dans le cadre de la surveillance biologique de l'exposition au styrène présente aussi un avantage non négligeable.

Cependant, vu l'instabilité de l'acide phénylglyoxylique dans l'urine, le dosage de ce métabolite seul n'est pas jugé pertinent. En revanche, comme l'instabilité de l'acide phénylglyoxylique conduit à reformer de l'acide mandélique, le dosage de la somme de ces deux métabolites permet de s'affranchir de cet

inconvenient et constitue de ce fait un biomarqueur d'exposition plus robuste que le dosage de l'acide mandélique seul.

Ce sont donc le styrène urinaire et les acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires additionnés qui ont été retenus comme pertinents pour la surveillance biologique de l'exposition au styrène.

Le dosage de l'acide mandélique seul, bien qu'influencé par l'instabilité de l'acide phénylglyoxylique, reste malgré tout un indicateur biologique intéressant pour le suivi de l'exposition au styrène. Les informations relatives à chacun des acides mandélique et phénylglyoxylique pris séparément sont présentées en annexe du rapport d'expertise.

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

Nom	STYRENE URINAIRE	
Autres substances produisant cet IBE	aucune	
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires	<p>- <u>Etudes de terrain</u> :</p> <p>Ong et al., 1994 - exposition $\approx 40 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 34) Styrène urinaire : $26 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ (moyenne géométrique, moment NR)</p> <p>Prieto et al., 2002 - exposition $\approx 70 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 34) Styrène urinaire : $5 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ (moyenne géométrique, en fin de poste)</p> <p>Gobba et al., 1993b - exposition $\approx 90 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 198) Styrène urinaire : $58 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ (moyenne arithmétique, FP)</p> <p>Maestri et al., 1999 - exposition $\approx 100 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 22) Styrène urinaire : $26 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ (moyenne arithmétique, FP)</p> <p>Imbriani et al., 1986 - exposition $\approx 110 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 69) Styrène urinaire : $48 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ (moyenne arithmétique, fin de poste)</p> <p>- <u>Etudes sur volontaires</u> : NR</p>	
Facteur de conversion	PM : 104,15 $1 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1} = 0,0096 \text{ }\mu\text{mol.L}^{-1}$ $1 \text{ }\mu\text{mol.L}^{-1} = 104,15 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$	
Concentrations dans la population générale	NR	
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	USA - ACGIH (BEI) Allemagne - DFG (BAT) Québec - IRSST (IBE) Finlande - FIOH (BAL)	Non renseigné

NR : non renseigné

Nom	ACIDES MANDELIQUE ET PHENYLGLYOXYLIQUE URINAIRES	
Autres substances produisant ces IBE	Éthylbenzène, acide alpha phénylaminoacétique, phénylglycine, phénylglycol, styrène glycol	
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires	<p>- <u>Etudes de terrain</u> :</p> <p>Ong et al., 1994 - exposition $\approx 40 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 34) Acide mandélique + acide phénylglyoxylique (moyenne géométrique) : 190 mg.g^{-1} créat (FP) 35 mg.g^{-1} créat (DP lendemain)</p> <p>Maestri et al., 1999 - exposition $\approx 100 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 22) Acide mandélique + acide phénylglyoxylique (moyenne arithmétique) : 775 mg.g^{-1} créat (FP)</p> <p>Gobba et al., 1993b - exposition $\approx 115 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 65) Acide mandélique + acide phénylglyoxylique (moyenne arithmétique) : 1 980 mg.L^{-1} (FP).</p> <p>Calabrese et al., 1996 - exposition $\approx 150 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 20) Acide mandélique + acide phénylglyoxylique (moyenne arithmétique) : 360 mg.g^{-1} créat (FP)</p> <p>- <u>Etudes sur volontaires</u> :</p> <p>Guillemin et al., 1976 - exposition $\approx 430 \text{ mg.m}^{-3}$ (n= 9) Acide mandélique + acide phénylglyoxylique (moyenne arithmétique) : 1500 mg.g^{-1} créat (FP) 350 mg.g^{-1} créat (DP lendemain)</p>	
Facteur de conversion	<p>- Pour acide mandélique PM : 152 1 mg.L^{-1} = 0,0066 mmol.L^{-1} 1 mmol.L^{-1} = 152 mg.L^{-1} 1 mg.g^{-1} créatinine = 0,74 mmol.mol^{-1} créatinine 1 mmol.mol^{-1} créatinine = 1,35 mg.g^{-1} créatinine</p> <p>- Pour acide phénylglyoxylique PM : 150 1 mg.L^{-1} = 0,0067 mmol.l^{-1} 1 mmol.L^{-1} = 150 mg.L^{-1} 1 mg.g^{-1} créatinine = 0,75 mmol.mol^{-1} créatinine 1 mmol.mol^{-1} créatinine = 1,33 mg.g^{-1} créatinine</p>	
Concentration dans la population générale	<p>Manini et al., 2004, population générale en Italie (n = 129)</p> <ul style="list-style-type: none"> - 97^{ème} percentile : 3,03 mg.g^{-1} créat - Médiane : NR - Moyenne géométrique : 0,61 mg.g^{-1} créat 	
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	USA - ACGIH (BEI)	400 mg.g^{-1} créat (FP) – 2003 ^a
	Allemagne - DFG (BAT)	600 mg.g^{-1} créat (FP - FS) – 2002 ^a
	Québec - IRSST (IBE)	NR
	Finlande - FIOH (BAL)	150 mg.L^{-1} (DP - FS) – 2009 ^b
	Suisse – SUVA (VBT)	500 mg.g^{-1} créat (FP) – 2012 ^b

^a Dernière modification^b Dernière mise à jour

Etude de la relation entre les concentrations d'IBE et les effets sanitaires

Les effets observés chez l'homme suite à l'exposition chronique au styrène concernent des organes cibles très variés. Les effets les plus fréquemment décrits sont de type neurotoxique, mais des effets respiratoires, cardiovasculaires, digestifs, hématologiques, hépatiques, rénaux, endocriniens et immunologiques ont également été rapportés (Afsset, Rapport « VLEP : santé et métrologie du styrène, 2009).

Plusieurs des tests indiquant des manifestations neurotoxiques concernent des dyschromatopsies, des allongements de temps de réaction, une moindre performance à des tests de mémoire ou de dextérité, des céphalées, des modifications de l'humeur et une atteinte de l'ouïe.

Styrène urinaire

Une étude de Gobba et al., (1993b) portant sur 73 travailleurs de l'industrie du plastique (renforcé par de la fibre de verre) exposés en moyenne à une concentration atmosphérique de 64 mg.m^{-3} (concentrations urinaires de styrène jusqu'à $69 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$) indique une augmentation significative de la prévalence des dyschromatopsies dans le groupe des travailleurs exposés par rapport au groupe contrôle (53 témoins non professionnellement exposés).

Somme des acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires

Une étude de Mutti portant sur un collectif de 50 travailleurs exposés au styrène a mis en évidence une altération de l'apprentissage des mots chez les travailleurs ayant des taux urinaires de la somme des acides mandélique et phénylglyoxylique supérieurs à 200 mg.g^{-1} créatinine ($150 \text{ mmol.mol}^{-1}$ de créatinine) et une altération de la mémoire logique et des troubles de la perception visuelle chez les travailleurs ayant des taux urinaires d'acides mandélique et phénylglyoxylique supérieurs à 400 mg.g^{-1} créatinine ($300 \text{ mmol.mol}^{-1}$ de créatinine) (Mutti et al., 1984).

Une étude de Toppila et al. (2006) porte sur 252 travailleurs de l'industrie du plastique renforcé. La moyenne des concentrations d'acide mandélique et d'acide phénylglyoxylique (somme) est égale à $1,4 \text{ mmol.L}^{-1}$. Les auteurs rapportent que l'exposition à ces faibles concentrations de styrène affecte la stabilité posturale, ce qui révèle un trouble de l'équilibre. Il est à noter que les expositions et les concentrations sont très peu documentées dans cette étude, ne permettant pas une analyse de la relation dose-réponse.

Dans une étude de Calabrese et al. (1996), la moyenne des concentrations d'acide mandélique et d'acide phénylglyoxylique (somme) en fin de poste est égale à $348,1 \text{ mg.g}^{-1}$ de créatinine ($\pm 196,7$) et aucune diminution de l'audition n'est rapportée à ces niveaux d'exposition.

Une étude Triebig et al. (2001) porte sur 22 travailleurs d'une fabrique de bateaux avec une concentration moyenne d'acide mandélique et d'acide phénylglyoxylique en fin de poste est égale à 472 mg.g^{-1} de créatinine (11 à 2 399). Les auteurs rapportent une augmentation de la prévalence des dyschromatopsies chez les travailleurs exposés au styrène par rapport au groupe contrôle (11 témoins non professionnellement exposés). Les auteurs ont noté que cet effet est réversible après quatre semaines sans exposition.

Etude de la relation entre les concentrations d'IBE et les expositions au styrène

De nombreuses études portent sur la relation entre les concentrations des IBE du styrène et les concentrations atmosphériques de styrène. Les principales données concernant les IBE retenus comme pertinents sont présentées dans le tableau ci-dessous.

n	Styr atmo (mg.m ⁻³)	Styru (FP) (µg.L ⁻¹)		acide mandélique + acide phénylglyoxylique (FP)		Références
	Moyenne a : arithmétique g : géométrique m : médiane	Moyenne a : arithmétique g : géométrique m : médiane	Pour VLEP-8h (100 mg.m ⁻³)	Moyenne a : arithmétique g : géométrique m : médiane	Pour VLEP-8h (100 mg.m ⁻³)	
34	70,5 (a)	5,7 (a) 5,2 (m)	7	147,1 (a) mg.g ⁻¹ cr	193 mg.g ⁻¹ cr	Prieto et al., 2002 ^a
22	113 (a) [40-230]	25,6 (a)	22	754 (a) mg.g ⁻¹ cr		Maestri et al., 1999 ^{b*}
39	46 (g) [0,9-140]	26,3 (g)	45	187,3 (g) mg.g ⁻¹ cr	557 mg.g ⁻¹ cr	Ong et al., 1994 ^{b*}
69	109 (m)	51 (m)	48			Imbriani et al. 1986 ^a
65	[8-770]	63 (g)	42	1 980 (g) mg.L ⁻¹	1185 mg.L ⁻¹	Gobba et al., 1993 ^{b*}
22	361 (a)			1135 (a) mg.L ⁻¹	474 mg.L ⁻¹	Apostoli et al., 1983 ^{c**}
20	[22-522]			mg.g ⁻¹ cr Lun : 591,4 (a) Jeu : 764,3 (a)	346 mg.g ⁻¹ cr 400 mg.g ⁻¹ cr	De Rosa et al., 1993 ^{b*}
20	93,6 (a)			485,6 (a) mg.g ⁻¹ cr	520 mg.g ⁻¹ cr	De Rosa et al., 1988 ^{b*}

^a Prélèvements atmosphériques sur 4 heures

^b Prélèvements atmosphériques sur 8 heures

^c prélèvements atmosphériques sur 4 fois 15 minutes

* Prélèvements passifs

** Prélèvements actifs

Construction des VLB et choix des valeurs biologiques de référence

L'atteinte du système nerveux périphérique a été largement étudiée mais les résultats des différentes études signalant une diminution de la vitesse de conduction sont assez discordants. Lorsqu'ils sont signalés, les effets neurotoxiques dus à l'exposition au styrène sont réversibles, du moins en partie, après arrêt de l'exposition. Les études de terrain n'ont pas permis d'établir une fonction dose-réponse entre les concentrations urinaires de styrène, acide mandélique, et de la somme des acides mandélique et phénylglyoxylique et les effets sanitaires (altération de l'audition et dyschromatopsie). Il est plus pertinent de prendre en compte les études mettant en relation les concentrations atmosphériques de styrène aux concentrations urinaires des différents IBE retenus et de construire des VLB basées sur une exposition à la VLEP-8h (100 mg.m⁻³). Le rapport d'expertise collective du CES VLEP sur le styrène (Anses, 2010) propose une valeur limite d'exposition professionnelle au styrène qui devrait protéger adéquatement une majorité de salariés contre les effets délétères potentiels du styrène sur le système nerveux central, en particulier sur la vision des couleurs que ce composé est susceptible de produire.

Styrène urinaire

Les concentrations urinaires de styrène en fin d'exposition (5 études de terrain) calculées à partir des équations de régression pour une exposition à la VLEP-8h (100 mg.m⁻³) sont comprises entre 7 et 48 µg.L⁻¹. Plus précisément, trois études donnent les résultats de l'ordre de 40 à 50 µg.L⁻¹, alors que les deux autres études conduisent à des valeurs de 7 et 22 µg.L⁻¹ pour les concentrations de styrène dans l'urine prélevée en fin de poste.

Les deux études qui relatent des mesures de prélèvements atmosphériques de 4 heures (Prieto et al., 2002 et Imbriani et al., 1986) ne sont pas retenues pour calculer une concentration de styrène urinaire en fin de poste en fonction de la concentration atmosphérique puisque les corrélations rapportées et les équations de régression ne sont valables que pour des expositions de 4 heures ou moins.

La moyenne des concentrations calculées pour une exposition à la VLEP-8h, en retenant les études de Maestri et al., 1999, Ong et al., 1994 et Gobba et al., 1993b est d'environ 40 µg.L⁻¹. La concentration

urinaire de styrène de $40 \mu\text{g.L}^{-1}$ dans des échantillons de fin de poste peut être retenue pour la construction d'une VLB basée sur une exposition à la VLEP-8h de 100mg.m^{-3} .

Acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires

Le dosage combiné des deux métabolites est à privilégier car cette sommation permet de s'affranchir des problèmes d'instabilité de l'acide phénylglyoxylique dans l'urine qui se transforme en acide mandélique. Ainsi l'ensemble des deux acides reste stable dans les urines après prélèvement.

Parmi les études de terrain présentées dans le tableau précédant, les valeurs extrapolées à partir des équations de régression rapportées (7 valeurs) conduisent à des concentrations urinaires de la somme des acides mandélique et phénylglyoxylique en fin de poste, assez hétérogènes (193 à 520mg.g^{-1} cr et 474 à 1185mg.L^{-1}) pour une exposition à la VLEP-8h de 100mg.m^{-3} . Comme pour le styrène urinaire, les études présentant des régressions calculées pour une exposition mesurée pendant 4 heures ou 15 minutes (Apostoli et al., 1983 et Prieto et al., 2002) n'ont pas été retenues. La moyenne des concentrations urinaires d'acide mandélique +acide phénylglyoxylique calculée à partir des autres études est proche de 500mg.g^{-1} de créatinine. Or, cette concentration n'est pas vraiment cohérente avec les concentrations calculées pour l'acide mandélique et l'acide phénylglyoxylique séparément à partir des équations de régression retrouvées dans la littérature. Les moyennes des concentrations calculées pour une exposition à la VLEP-8h, en excluant les études d'Apostoli et al. (1983) et de Prieto et al. (2002) sont de $448 \mu\text{g.g}^{-1}$ de créatinine pour l'acide mandélique et $163 \mu\text{g.g}^{-1}$ de créatinine pour l'acide phénylglyoxylique (pour des prélèvements en fin de poste). Il a été identifié que, les valeurs journalières rapportées par De Rosa en 1993 paraissent anormalement basses par rapport aux valeurs moyennes publiées par le même auteur en 1988 sur le même groupe de travailleurs. Les concentrations calculées à partir des équations renseignées dans la publication conduisent, pour une exposition à 100mg.m^{-3} , à des concentrations d'acide mandélique +acide phénylglyoxylique systématiquement inférieures (FP et DP) aux concentrations calculées à partir d'autres études. Ainsi, seules les valeurs moyennes de 1988 seront retenues, les valeurs de l'étude de 1993 ne seront pas retenues pour le calcul de la VLB.

Sur la base des données des études non exclues et en normalisant les concentrations rapportées à la créatinine à la valeur de $1,4 \text{g}$ de créatinine. L^{-1} , la concentration moyenne correspondant à la somme des acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires en fin de poste est égale à 588mg.g^{-1} de créatinine (846mg.g^{-1} de créatinine pour Gobba et al., 1993b et 398mg.g^{-1} de créatinine pour Ong et al., 1994). La concentration urinaire de la somme des acides mandélique et phénylglyoxylique de 600mg.g^{-1} de créatinine dans des échantillons de fin de poste peut être retenue pour la construction d'une VLB basée sur une exposition à la VLEP-8h de 100mg.m^{-3} .

A titre de comparaison, la valeur proposée par l'ACGIH est de 400mg.g^{-1} de créatinine et celle proposée par le Comité MAK en Allemagne de 600mg.g^{-1} de créatinine pour des VLEP de styrène à 86mg.m^{-3} .

A défaut de données en France, l'étude menée en Italie, en population générale, peut-être retenue pour définir une valeur biologique de référence pour la somme acide mandélique +acide phénylglyoxylique (Manini et al., 2004). La concentration urinaire d'acide mandélique +acide phénylglyoxylique, correspondant au 97^{ème} percentile de la distribution dans cette étude est de $3,03 \text{mg.g}^{-1}$ de créatinine, arrondie à 3mg.g^{-1} de créatinine.

Conclusions de l'expertise collective

Les valeurs limites biologiques (VLB) proposées pour le suivi de l'exposition au styrène sont :

Styrène urinaire en fin de poste

VLB basée sur une exposition à la VLEP-8h (100mg.m^{-3}) : **$40 \mu\text{g.L}^{-1}$**

VLB basée sur un effet sanitaire : Non

Valeurs biologiques de référence : NR

Somme des acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires en fin de poste

VLB basée sur une exposition à la VLEP-8h (100 mg.m^{-3}) : **600 mg.g⁻¹ créatinine**

VLB basée sur un effet sanitaire : Non

Valeurs biologiques de référence : 3 mg.g^{-1} créatinine

Modalité de prélèvement et facteurs pouvant affecter l'interprétation des résultatsStyrène urinaire

La VLB ayant été calculée à partir de dosages réalisés en fin de poste, il est recommandé de réaliser des prélèvements en fin de poste, indépendamment du jour de la semaine de travail.

Les prélèvements doivent être réalisés en dehors du lieu de travail, après une douche et un changement de vêtement, pour éviter la contamination des échantillons par l'air ambiant. Les échantillons doivent être prélevés dans des flacons en verre presque complètement remplis et fermés avec un bouchon en polytétrafluoroéthylène. Un volume minimum de 20 mL est requis. Les échantillons peuvent être conservés pendant 15 jours à 4°C.

Acide mandélique + acide phénylglyoxylique urinaires

L'acide mandélique présente deux phases d'élimination dont la deuxième d'une demi-vie entre 17 et 26 heures. Il est possible que l'acide mandélique s'accumule au cours d'une semaine de travail. Il est donc préférable de réaliser les prélèvements urinaires en fin de poste en fin de semaine de travail pour mesurer les concentrations d'acide mandélique + acide phénylglyoxylique.

Les prélèvements seront réalisés dans des flacons en verre, plastique ou polyéthylène (100 mL). L'ACGIH (2007) préconise une acidification des échantillons avec 1% d'acide acétique (v/v). L'IRSST (1995a et b) préconise une acidification suivie d'une extraction à l'acétate d'éthyle. Un volume de prélèvement compris entre 10 et 20 mL est requis.

La consommation d'alcool et la prise de certains médicaments peuvent inhiber le métabolisme et ainsi être source d'interférence dans l'interprétation des résultats de mesures (ACGIH, 2007 ; INRS, 2010).

Une inhibition compétitive des systèmes enzymatiques de métabolisation du styrène se produit lors d'une co-exposition à l'acétone (assez faible), au méthanol, au benzène, au toluène, au xylène, à l'éthylbenzène et au phénylglycol. L'exposition à ces deux dernières substances conduisent d'ailleurs aussi à l'excrétion dans les urines d'acides mandélique et phénylglyoxylique.

Biométrie

Styrène urinaire			
	Méthode 1	Méthode 2	Méthode 3
Technique d'analyse	Chromatographie en phase gazeuse avec injection de l'espace de tête et détection par spectrométrie de masse (HS-GC-MS)	Chromatographie en phase gazeuse avec injection de l'espace de tête-concentrateur d'échantillon purge et trappe et détection par ionisation de flamme (PT-HS-GC-FID)	Chromatographie en phase gazeuse avec injection de l'espace de tête et détection par ionisation de flamme (HS-GC-FID)
Limite détection	0,01 µg.L ⁻¹	0,4 µg.L ⁻¹	3 µg.L ⁻¹
Limite de quantification			
Fidélité		< 3%	2,5 %
Justesse	12 à 22%		
Etalon de référence			
Existence d'un programme de contrôle qualité inter-laboratoire	non	non	non
Traitement de l'échantillon / durée	SPE rapide	Purge et trappe	non
Volume d'échantillon	4 à 10 ml	5 ml	200 µl à 5ml
Références	Pezzagno et al, 1985 Wang et al, 2007 Prado et al, 2006	Prieto et al, 2002 Periago et al., 1996	Ghittori S et al, 1987 Ong CN et al, 1994 INRS, 2010

Acide mandélique et acide phénylglyoxylique Urinaires			
	Méthode 1	Méthode 2	Méthode 3
Technique d'analyse	Chromatographie liquide à haute performance avec détecteur ultraviolet (+/- à barrettes de diodes) (HPLC-UV ou HPLC-UV/DAD)	Chromatographie en phase gazeuse avec détection par ionisation de flamme (GC-FID)	Chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse en tandem (GC-MS/MS)
Limite détection	0,5 à 10 mg.L ⁻¹ (acide phénylglyoxylique) 5 à 25 mg.L ⁻¹ (acide mandélique)	10 mg.L ⁻¹ pour chaque acide	0,16 mg.L ⁻¹ (acide phénylglyoxylique) 0,115 mg.L ⁻¹ (acide mandélique)
Limite de quantification	20 mg.L ⁻¹ (acide phénylglyoxylique) 50 mg.L ⁻¹ (acide mandélique)	20 mg.L ⁻¹ (acide phénylglyoxylique) 30 mg.L ⁻¹ (acide mandélique)	
Fidélité	CV 7 à 10 %	CV = 0,94% (acide phénylglyoxylique) CV = 1,03% (acide mandélique)	
Justesse	Biais < 5% à 20 %	NR	
Etalon de référence		Solution commerciale	
Existence d'un programme de contrôle qualité inter-laboratoire		G-EQUAS	
Traitement de l'échantillon / durée	Simple dilution et centrifugation Extraction liquide/liquide	Extraction liquide/liquide puis dérivatisation	Dérivatisation puis microextraction en phase solide par immersion directe (DI-SPME)
Volume d'échantillon	200 µl à 1 ml	1 à 5 ml	2 ml
Références	Ogata et al., 1988 Sperlingova et al., 2004 Chua et al., 1993 Papaleo et al., 2011	Flek et al., 1980 Lanchote et al., 1994	Pacanti et al., 2008

Acide mandélique et acide phénylglyoxylique Urinaires		
	Méthode 4	Méthode 5
Technique d'analyse	Chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse (GC-MS)	Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS)
Limite de détection	2 mg.L ⁻¹ (acide phénylglyoxylique) 1 mg.L ⁻¹ (acide mandélique)	0,01 mg.L ⁻¹
Limite de quantification	40 mg.L ⁻¹ (acide phénylglyoxylique) 10 mg.L ⁻¹ (acide mandélique)	
Fidélité		
Justesse	< 6% (acide phénylglyoxylique) < 19% (acide mandélique)	< 8%
Etalon de référence	Solution commerciale	
Existence d'un programme de contrôle qualité inter-laboratoire	G-EQUAS	
Traitement de l'échantillon / durée	Extraction en phase solide (SPE) puis dérivatisation	Simple dilution au 1/10 et filtration Étalon interne deutéré (d6-acide mandélique et d5-acide phénylglyoxylique)
Volume d'échantillon	10 ml	20 µl
Références	Szucs et al., 2002	Manini et al., 2002 Marchese et al., 2004

Préambule

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

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

L'organisation de la phase d'expertise scientifique nécessaire à la fixation des valeurs limites d'exposition professionnelle (VLEP) a été confiée à l'Afsset dans le cadre du plan santé au travail 2005-2009 (PST), puis à l'Anses suite à la fusion de l'Afsset et de l'Afssa en 2010.

La recommandation d'un suivi biologique de certaines substances en milieu professionnel et des valeurs biologiques associées à des indicateurs biologiques d'exposition (IBE) fait partie de cette mission. En fonction de l'agent chimique considéré et des données scientifiques disponibles les valeurs biologiques recommandées n'ont pas la même portée.

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

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

Dans le cas des substances considérées comme cancérigènes sans seuil d'effet, lorsque l'information scientifique disponible permet de faire une évaluation quantitative de risque, les VLB seront exprimées sous forme d'une échelle de 3 concentrations correspondant aux excès de risque individuel (ERI) 10^{-4} , 10^{-5} et 10^{-6} (VLB basées sur des niveaux de risque). Pour les substances cancérigènes, en l'absence de données quantitatives suffisantes, c'est sur la base d'un autre effet qu'une valeur limite biologique sera calculée (VLB pragmatique). Elles n'auront pas pour objectif de fixer une valeur en dessous de laquelle il n'y a pas d'effet sanitaire, mais permettront aux préventeurs de disposer d'outils afin de limiter les expositions à ces substances sur les lieux de travail.

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

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

Abréviations

ACGIH : american conference of governmental industrial hygienists
ATSDR : agency for toxic substances and disease registry
AGS : Ausschuss für Gefahrstoffe (comité pour les substances dangereuses)
BEI : biological exposure index
BAT : biologische arbeitsstoff toleranzwerte
CAS : chemical abstract service
CES : comité d'experts spécialisés
CMR : cancérogène, mutagène, réprotoxique
CIRC : centre international de recherche sur le cancer ou IARC en anglais
CV : coefficient de variation
DFG : deutsche Forschung Gemeinschaft (Allemagne)
DP : début de poste
DS : début de semaine
ECB : european chemical bureau
FIOH : finnish institute of occupational health
FP : fin de poste
FS : fin de semaine
HPLC : chromatographie liquide haute performance
HSE : health and safety executive
GESTIS : Gefahrstoffinformationssystem (système d'information sur les substances dangereuses)
IBE : indicateur biologique d'exposition
IC : intervalle de confiance
INRS : institut national de recherche et de sécurité (France)
kPa : kilopascal
MAK : maximale arbeitsplatz-konzentration (concentration maximale des lieux de travail)
MS : milieu de semaine
NHANES : national health and nutrition examination survey
NIOSH : national institute for occupational safety and health (USA)
NOAEL : no observed adverse effect level
NR : non renseigné
OSHA : occupational safety and health administration (USA)
PBPK : physiologically based pharmacokinetic
PEL : permissible exposure limits (valeurs définies par l'OSHA : limites d'exposition acceptables)
PM : poids moléculaire
ppm : parties par millions
REL : recommended exposure limits (valeurs définies par le NIOSH)
SM : spectrométrie de masse (MS en anglais)
TWA : time weighted average (moyenne pondérée dans le temps)
VBR : valeur biologique de référence
VLB : valeur limite biologique
VLCT : valeur limite court terme
VLEP : valeur limite d'exposition professionnelle
VME : valeur moyenne d'exposition
W : watts

1 Identification de la substance

Nom	Styrène
Synonymes	Vinylbenzène, Phényléthylène, Phényléthène, Phénéthylène, thénylbenzène, Styrol, Cinnamène
N° CAS	100-42-5
N° EINECS	202-851-5
Formule brute	C ₈ H ₈
Forme physique, aspect	Liquide incolore à jaunâtre, visqueux, volatil, à odeur très pénétrante
Facteur de conversion	1 ppm = 4,33 mg.m ⁻³ à 20°C 1 mg/m ³ = 0,233 ppm à 20°C
VLEP en mg.m ⁻³ (Gestis consulté le 23/03/2012)	<p>Europe</p> <p>Allemagne (AGS et DFG) et Espagne : 86 Angleterre : 430 Autriche et Suisse : 85 Danemark : 105 Hongrie et Pologne : 50 Suède : 90</p> <p>Etats-Unis</p> <p>ACGIH : TLV - TWA : 85 NIOSH : REL - TWA : 215 OSHA : PEL - TWA : 100 ppm</p>
VLEP-8h recommandée par le CES VLEP	100 mg/m ³ (Anses, 2010)
Mention peau recommandée par le CES VLEP	oui
Classification CMR/IARC	Groupe 2B (IARC 2002)

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

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

2.1 Absorption

Le styrène est principalement absorbé par inhalation à travers les poumons et, à un moindre degré, par voie cutanée (Lawton et al., 2006).

2.1.1 Cutanée

L'absorption percutanée de vapeur de styrène à des niveaux assez élevés de 300 à 600 ppm chez l'homme a été démontrée mais reste faible avec une proportion variant de 0,1 à 2% de l'absorption respiratoire estimée (Riihimaki et Pfaffli, 1978).

D'autres auteurs proposent un coefficient d'absorption cutané de $0,022 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ pour les vapeurs de styrène (Wieczorek, 1985) ce qui équivaut à environ 5% de la dose absorbée par inhalation dans les mêmes conditions.

La vitesse d'absorption du styrène liquide sur les avant-bras est de l'ordre de 9 à 15 $\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ (Dutkiewicz et Tyras, 1968) et de $1 \pm 0,5 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$ sur les mains (Berode et Droz, 1985) soit de 150 à 250 fois moins que sur l'avant-bras. Cette différence sera discutée sous 2.4.

2.1.2 Pulmonaire

Les études expérimentales menées chez l'humain et chez l'animal ont montré que l'absorption pulmonaire est rapide et que son taux varie entre 66 et 93% (Engstrom et al., 1978 ; Cohen et Carlson, 2002). Dans l'interprétation des résultats, l'activité physique doit être prise en compte puisque l'augmentation de la ventilation alvéolaire induit l'accroissement de l'absorption pulmonaire du styrène (Bergert et Nestler, 1991).

D'autres études menées sur des volontaires (Wigaeus et al., 1983) ou sur des travailleurs (Löf et al., 1986a) ont démontré qu'une augmentation de la charge de travail pouvait avoir une grande influence sur la valeur des indicateurs biologiques d'exposition (IBE) du styrène. Une modélisation toxicocinétique à base physiologique (PBPK) corrobore ces résultats (Truchon et al., 2009) et permet de prédire de manière relativement satisfaisante les concentrations des IBE urinaires pour différents niveaux d'activité physique.

2.1.3 Digestive

Aucune donnée sur l'absorption du styrène n'existe chez l'homme par ingestion.

2.2 Distribution

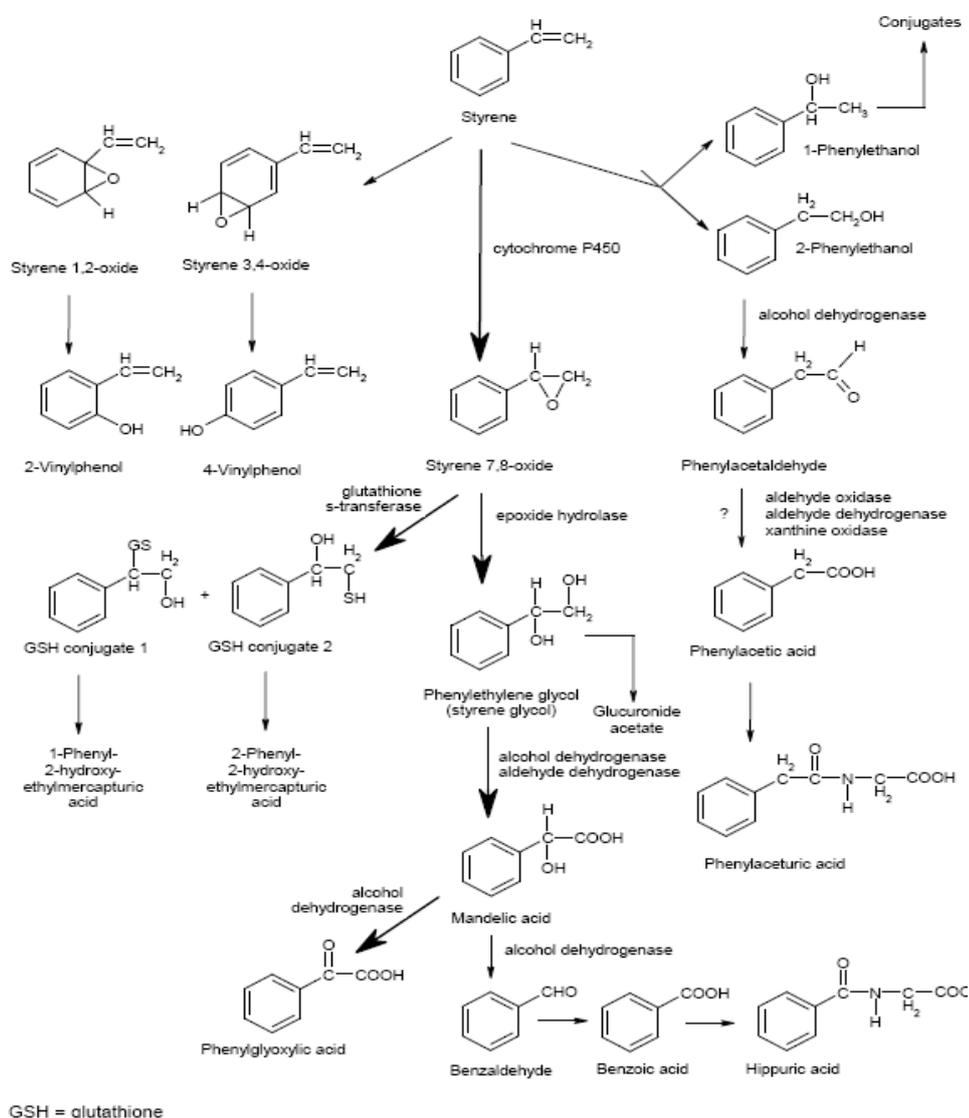
Le styrène inhalé est largement distribué dans tous les tissus et les organes (muscles, cœur, foie, reins, poumons, rate, cerveau). La concentration de styrène dans les tissus musculaires et les tissus cérébraux correspond à approximativement 70% de la valeur du styrène dans le sang artériel. Les concentrations les plus élevées sont généralement retrouvées dans les tissus adipeux (près de 10 fois les concentrations retrouvées dans les autres organes (Vyskocil et al., 1997a ; IARC 2002 ; INRS 2006 ; ATSDR 2007 ; INERIS 2008). Les coefficients de partage sang/air et lait/sang sont respectivement d'environ 70 et 2. En raison de son caractère lipophile, une partie du styrène peut se stocker provisoirement dans le tissu adipeux avec une demi-vie estimée de 2 à 5 jours (Engstrom et al., 1978 ; ATSDR, 2007).

Les propriétés liposolubles du styrène favorisent les concentrations élevées dans le sang et par conséquent son potentiel à exercer des effets toxiques au niveau du système nerveux central (Vyskocil et al., 1997b). Les effets neurotoxiques proviendraient de l'action du styrène sur les neurotransmetteurs (Gong et al., 2002).

Chez des volontaires exposés à 80 ppm (350 mg.m⁻³) de styrène, il a été constaté que la clairance dans le sang se fait de manière biphasique, avec une phase rapide (demi-vie de 0,58 heures) suivie d'une phase plus lente (demi-vie de 13 heures), ce qui indique une toxicocinétique à deux compartiments. Dans une étude menée sur 76 travailleurs exposés au styrène Brugnone (1993) déduit une demi-vie de 3,9 heures sur la base des dosages de styrène dans le sang réalisés en fin de poste et le lendemain matin.

2.3 Métabolisation

Le styrène présente plusieurs voies métaboliques comme illustré dans la figure suivante.



Métabolisme du styrène chez l'homme et l'animal (ATSDR, 2007)

La voie métabolique primaire est l'oxydation du styrène en styrène 7,8-oxyde par certaines isoenzymes microsomiques du cytochrome P450, principalement le CYP2E1. Cette réaction correspond à une bioactivation du styrène par formation de l'oxyde de styrène, composé au potentiel génotoxique reconnu (Vodicka et al., 2006). Cette réaction est stéréo-sélective et aboutit à la formation de 2 énantiomères : le R-styrène 7,8-oxyde et le S-styrène 7,8-oxyde, dans des proportions variables selon l'espèce animale. Le R-styrène 7,8-oxyde s'avère plus toxique que le S-styrène 7,8-oxyde (Vodicka et al., 2006).

Le styrène 7,8-oxyde est majoritairement hydrolysé par l'époxyde hydrolase des microsomes (mEH) pour former du styrène glycol peu stable et rapidement transformé sous l'action de l'alcool déshydrogénase et de l'aldéhyde déshydrogénase en acide mandélique, qui peut lui-même donner naissance à l'acide phénylglyoxylique. Peu importante chez l'homme, la transformation de l'acide mandélique en alcool benzylique puis en acide benzoïque après oxydation, aboutit à la formation d'acide hippurique. Chez l'homme, les acides mandélique et phénylglyoxylique représentent 95% des métabolites du styrène.

D'autres métabolites minoritaires peuvent être produits par liaison du styrène 7,8-oxyde avec le glutathion pour former des acides phénylhydroxyéthylmercapturiques. Cette réaction, catalysée par les glutathion-S-transférases, génère deux isomères, la N-acétyl-S-(1-phényl-2-hydroxy)-éthylcystéine et N-acétyl-S-(2-phényl-2-hydroxy)-éthylcystéine, (Sumner et al., 1994 ; Lauwerys et al., 2007). Les acides mercapturiques ne représenteraient que 1% de la quantité totale de styrène absorbé (De Rooij et al., 1998).

Il faut aussi signaler que la consommation d'alcool (prise unique de 0,5 à 1,0 g d'éthanol / kg corporel, soit 35 à 70 g d'alcool pour un homme de 70 kg) inhibe (surface sous la courbe de la masse excrétée des métabolites plus faible) et ralentit le métabolisme du styrène en ses acides mandélique et phénylglyoxylique (Berode et al., 1986 ; Cerny et al., 1990). L'élimination des métabolites est fortement ralentie dès l'heure qui suit la prise d'alcool avec une diminution très marquée pour l'acide mandélique pouvant atteindre 50% de la valeur attendue en fin d'exposition. Les niveaux des métabolites dans les urines du lendemain matin restent inférieurs aux niveaux attendus mais la différence n'est pas significative. Il est intéressant de noter que le styrène glycol sanguin mesuré dans un échantillon de fin d'exposition est fortement augmenté en cas de prise d'alcool ce qui signe un ralentissement des transformations dépendantes de l'alcool et de l'aldéhyde deshydrogénases monopolisées par l'éthanol (Berode et al., 1986).

2.4 Excrétion

Chez l'humain, il est bien établi que le styrène inhalé est presque totalement (environ 97%) éliminé dans les urines sous forme de ses deux principaux métabolites, l'acide mandélique et l'acide phénylglyoxylique.

Plusieurs études ont montré qu'une proportion se situant entre 0,7 et 4,4% de la dose absorbée est éliminée sous forme inchangée dans l'air exhalé (IARC 1994 ; Vyskocil et al., 1997b). Les fractions respectives de styrène non métabolisé excrété dans les urines et par la sueur seraient inférieures à 1% (INRS, 2006). L'acide mandélique est le principal métabolite du styrène et représente 85% des métabolites urinaires éliminés après une exposition de huit heures (Ong et al., 1994).

Dans l'étude de Wigaeus et al., huit hommes volontaires effectuant un effort physique léger ont été exposés au styrène par inhalation à une concentration de 300 mg.m^{-3} pendant deux heures (50W). Dans les urines collectées sur 28 heures après la fin de l'exposition, les auteurs ont mesuré une dose moyenne cumulée d'acide mandélique et d'acide phénylglyoxylique de 2,6 mmol (SD = 0,4 mmol). Cette dernière valeur est équivalente à environ 58% de la dose du styrène absorbé (Wigaeus et al., 1983).

En 1968, une étude sur volontaires visait à évaluer l'absorption cutanée de divers solvants aromatiques, dont le styrène, par application directe d'une certaine masse de solvant liquide introduit sous un verre de montre hermétiquement fixé sur l'avant-bras et maintenu pendant 15 à 60 minutes. Après l'expérience, le solvant restant est récupéré et la masse de solvant absorbée est calculée par différence des masses. Les auteurs (Dutkiewicz et Tyras, 1968) ont estimé qu'environ 13% du styrène absorbé par voie cutanée est éliminé dans l'urine sous forme d'acide mandélique. Cette valeur est à considérer avec précaution en raison de la fiabilité contestable de la méthodologie utilisée pour estimer la dose absorbée.

Des sujets exposés 8 heures par jour à 200 ppm de styrène excrètent environ 2 à 3 g d'acide mandélique par litre d'urine. Des études anciennes (Guillemin et al., 1976 ; Guillemin et al., 1988) aux plus récentes, (Wongvijitsuk et al., 2011) s'accordent pour conclure qu'une exposition moyenne à 50 ppm de styrène engendre en fin de journée de travail les concentrations urinaires moyennes d'acide mandélique de 800 mg.g^{-1} de créatinine et d'acide phénylglyoxylique de 250 mg.g^{-1} de créatinine.

Même si environ 1% seulement de la dose du styrène absorbé est retrouvée sous la forme de thioéthers urinaires, Aringer et al. ont proposé leur dosage comme indicateur biologique d'exposition au styrène (Aringer et al. 1991).

Plusieurs auteurs ont examiné la possibilité d'utiliser les acides phénylhydroxyéthyl-mercapturiques spécifiques [N-acétyl-S-(1-phényl-2-hydroxyéthyl)-L-cystéine et N-acétyl-S-(2-phényl-2-hydroxyéthyl)-L-cystéine] urinaires comme indicateurs biologiques d'exposition. Ces biomarqueurs spécifiques du styrène sont bien corrélés à l'intensité de l'exposition ainsi qu'aux taux des acides mandélique et phénylglyoxylique dans les mêmes échantillons d'urine (Ghittori et al., 1997 ; Maestri et al., 1997a ; Maestri et al., 1997b). Toutefois, le dosage urinaire des acides phénylhydroxyéthylmercapturiques spécifiques n'est pas reconnu comme méthode utilisable en routine. Les variations individuelles importantes doivent être prises en compte afin de valider un tel marqueur (De Palma et al., 2001).

Korn et al. ont proposé de suivre le phényl-2-éthanol et les énantiomères L et D du phényléthylène glycol dans les urines des travailleurs exposés au styrène (Korn et al., 1985). Ces métabolites ne semblent pas spécifiques de ce solvant puisqu'ils se retrouvent aussi dans les urines du groupe contrôle.

L'utilisation de 4-vinylphénol urinaire comme indicateur biologique a été recommandée pour des expositions excédant 1 ppm. Une corrélation significative a été observée entre le styrène atmosphérique et le 4-vinylphénol urinaire ($r = 0,607$, $p < 0,001$) et, également, entre la somme des acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires ($r = 0,903$, $p < 0,001$). Le 4-vinylphénol est considéré comme un biomarqueur hautement spécifique pour la surveillance biologique d'exposition au styrène (Manini et al. 2003) mais ne représente que 0,5% de la quantité totale des métabolites excrétés.

Synthèse des données toxicocinétiques de l'excrétion du styrène et de ses métabolites

	Voie d'élimination	% d'élimination par cette voie	½ vie d'élimination	Références
Substance mère				
Styrène	Air expiré	0,7 - 4,4% 0,7 - 2,2% 2,6%	Biphasique : 13 - 52 minutes et 4 - 20 heures Un délai d'élimination peut survenir jusqu'à 3 jours en relation avec le stockage dans la masse adipeuse	INRS, 2006 INERIS, 2008 ATSDR, 2007 ACGIH, 2007
	Urine	< 1%		INRS, 2006
	Sueur	< 1%		INRS, 2006
Métabolites				
Acide mandélique	Urine	85% de la dose absorbée	Biphasique : 4 - 9 h et 17 - 26 h	INRS, 2006 ACGIH, 2007 ATSDR, 2007
Acide phénylglyoxylique	Urine	10% de la dose absorbée	Biphasique : 8 - 10 heures (+phase d'élimination plus lente)	INRS, 2006 ACGIH, 2007
Somme des acides phénylhydroxyléthyl-mercapturiques	Urine	< 1%		INRS, 2006 ATSDR, 2007
2-Vinylphénol	Urine	< 1%		INRS, 2006 ATSDR, 2007
4-Vinylphénol	Urine	< 1%		INRS, 2006 ATSDR, 2007
Acide hippurique	Urine	< 1%		INRS, 2006

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

3.1 Indicateurs biologiques d'exposition disponibles

Nom de l'indicateur biologique d'exposition	Matrice de prélèvement
Styrène	Urine
Styrène	Sang (veineux)
Styrène	Air expiré
Acide mandélique	Urine
Acide phénylglyoxylique	Urine
Acide mandélique + Acide phénylglyoxylique	Urine

3.1.1 Informations générales

Nom	STYRENE URINAIRE	
Autres substances produisant cet IBE	aucune	
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires	<p>- <u>Etudes de terrain</u> :</p> <p>Ong et al., 1994 - exposition $\approx 40 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 34) Styrène urinaire : $26 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ (moyenne géométrique, moment NR)</p> <p>Prieto et al., 2002 - exposition $\approx 70 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 34) Styrène urinaire : $5 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ (moyenne géométrique, en fin de poste)</p> <p>Gobba et al., 1993b - exposition $\approx 90 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 198) Styrène urinaire : $58 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ (moyenne arithmétique, FP)</p> <p>Maestri et al., 1999 - exposition $\approx 100 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 22) Styrène urinaire : $26 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ (moyenne arithmétique, FP)</p> <p>Imbriani et al., 1986 - exposition $\approx 110 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 69) Styrène urinaire : $48 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ (moyenne arithmétique, fin de poste)</p> <p>- <u>Etudes sur volontaires</u> : NR</p>	
Facteur de conversion	PM : 104,15 $1 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1} = 0,0096 \text{ }\mu\text{mol.L}^{-1}$ $1 \text{ }\mu\text{mol.L}^{-1} = 104,15 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$	
Concentrations dans la population générale	NR	
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	USA - ACGIH (BEI) Allemagne - DFG (BAT) Québec - IRSST (IBE) Finlande - FIOH (BAL)	NR

NR : non renseigné

Nom	STYRENE DANS LE SANG	
Autres substances produisant cet IBE	aucune.	
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires	<p>- <u>Etudes de terrain</u> :</p> <p>Ong et al., 1994 - exposition $\approx 40 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 30) Styrène sang : $0,19 \text{ mg.L}^{-1}$ (moyenne géométrique, en fin de poste)</p> <p>Prieto et al., 2002 - exposition $\approx 70 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 34) Styrène sang : $40 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ (moyenne géométrique, moment NR)</p> <p>Brugnone et al., 1993 - exposition $\approx 200 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 76) Styrène sang : $1,21 \text{ mg.L}^{-1}$ (moyenne arithmétique, en fin de poste)</p> <p>Gobba et al., 1993b - exposition $\approx 90 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 36) Styrène sang : $0,59 \text{ mg.L}^{-1}$ (moyenne arithmétique, fin de poste de 4 heures)</p> <p>- <u>Etudes sur volontaires</u> :</p> <p>Löf et al., 1986b ; Wigaeus et al., 1983 Exposition de 2 heures à $\approx 300 \text{ mg.m}^{-3}$ en chambre d'inhalation avec exercice de 50 W sur bicyclette ergométrique Styrène sanguin : 1,6 à 2 mg.L^{-1} (fin d'exposition)</p>	
Facteur de conversion	PM : 104,15 $1 \text{ }\mu\text{g.l}^{-1} = 0,0096 \text{ }\mu\text{mol.L}^{-1}$ $1 \text{ }\mu\text{mol.L}^{-1} = 104,15 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$	
Concentrations dans la population générale	USA-NHANES 2003-2004 (n = 1 245) - 95 ^{ème} percentile : $0,12 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ (CDC, 2009) Italie (n = 81) - 95 ^{ème} percentile : NR - Médiane : $0,17 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ (Brugnone et al., 1993)	
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	USA - ACGIH (BEI) Allemagne - DFG (BAT) Québec - IRSST (IBE) Finlande - FIOH (BAL) Autre(s) valeur(s) (Suisse, ...)	$0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ (FP) – 2003 ^a NR

^a Dernière modification

Nom	STYRENE DANS L'AIR EXPIRE	
Autres substances produisant cet IBE	aucune	
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires	<ul style="list-style-type: none"> - <u>Etudes de terrain</u> : Ong et al., 1994 - exposition $\approx 40 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 34) Styrène air expiré : 2 mg.m^{-3} (moyenne géométrique, moment NR) - <u>Etudes sur volontaires</u> : Löf et al., 1986b Exposition de 2 heures à $\approx 300 \text{ mg.m}^{-3}$: en chambre d'inhalation avec exercice de 50 W sur bicyclette ergométrique Styrène air expiré : 30 mg.m^{-3} (moyenne arithmétique, moment NR) 	
Facteur de conversion	PM : 104,15 $1 \text{ } \mu\text{g.m}^{-3} = 0,0096 \text{ } \mu\text{mol.m}^{-3}$ $1 \text{ } \mu\text{mol.m}^{-3} = 104,15 \text{ } \mu\text{g.m}^{-3}$	
Concentrations dans la population générale	Italie (81 personnes en population générale) <ul style="list-style-type: none"> - 95^{ème} percentile : NR - Médiane : $3 \text{ } \mu\text{g.m}^{-3}$ (Brugnone et al. 1993) 	
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	USA - ACGIH (BEI) Allemagne - DFG (BAT) Québec - IRSST (IBE) Finlande - FIOH (BAL)	NR

Nom	ACIDE MANDELIQUE URINAIRE	
Autres substances produisant cet IBE	Ethybenzène, phénylglycol	
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires	<p>- <u>Etudes de terrain</u> :</p> <p>Ong et al., 1994 - exposition $\approx 40 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 34) Acide mandélique (moyenne géométrique) : 100 mg.g^{-1} créat (FP) 5 mg.g^{-1} créat (DP lendemain)</p> <p>Prieto et al., 2002 - exposition $\approx 70 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 34) Acide mandélique (moyenne géométrique) : 90 mg.g^{-1} créat (FP) 40 mg.g^{-1} créat (DP lendemain)</p> <p>Gobba et al., 1993b - exposition $\approx 115 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 65) Acide mandélique (moyenne arithmétique) : $1\ 480 \text{ mg.L}^{-1}$ (FP)</p> <p>Maestri et al., 1999 - exposition $\approx 100 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 22) Acide mandélique (moyenne arithmétique) : 600 mg.g^{-1} créat (FP)</p> <p>De Rosa et al., 1988 - exposition $\approx 100 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = ?) Acide mandélique (moyenne) : 400 mg.g^{-1} créat (FP) 130 mg.g^{-1} créat (DP lendemain)</p> <p>Morata et al., 2002 - exposition $\approx 16 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 313) Acide mandélique (moyenne arithmétique) : 135 mg.g^{-1} créat (FP)</p> <p>Calabrese et al., 1996 - exposition $\approx 150 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 20) Acide mandélique (moyenne arithmétique) : 200 mg.g^{-1} créat (FP)</p> <p>Campagna et al., 1995 - exposition $\approx 200 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 128) Acide mandélique (moyenne arithmétique) : 500 mg.g^{-1} créat (FP)</p> <p>- <u>Etudes sur volontaires</u> :</p> <p>Guillemin et al., 1976 - exposition $\approx 430 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 9) Acide mandélique (moyenne arithmétique) : 1100 mg.g^{-1} créat (FP) 150 mg.g^{-1} créat (DP lendemain)</p>	
Facteur de conversion	PM : 152 $1 \text{ mg.L}^{-1} = 0,0066 \text{ mmol.l}^{-1}$ $1 \text{ mmol.L}^{-1} = 152 \text{ mg.L}^{-1}$ 1 mg.g^{-1} créatinine = $0,74 \text{ mmol.mol}^{-1}$ créatinine 1 mmol.mol^{-1} créatinine = $1,35 \text{ mg.g}^{-1}$ créatinine	
Concentrations dans la population générale	Manini et al., 2004, population générale en Italie (n = 129) - 97 ^{ème} percentile : $2,4 \text{ mg.g}^{-1}$ créat - Médiane : NR, moyenne géométrique : $0,4 \text{ mg.g}^{-1}$ créat	
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	USA - ACGIH (BEI)	NR
	Allemagne - DFG (BAT)	NR
	Québec - IRSST (IBE)	800 mg.g^{-1} créatinine (FP) - 2004 ^a
	Finlande - FIOH (BAL)	400 mg.g^{-1} créatinine (FP) - 2009 ^b
	Suisse - SUVA (VBT)	400 mg.g^{-1} créatinine (FP) - 2012 ^b
	Belgique- UCL-TOXI (VBA)	300 mg.g^{-1} créatinine (FP) 100 mg.g^{-1} créatinine (DP) - 2007 ^b

^a Dernière modification^b Dernière mise à jour

Nom	ACIDE PHENYLGLYOXYLIQUE URINAIRE	
Autres substances produisant cet IBE	Éthylbenzène, acide alpha phénylaminoacétique, phénylglycine, phénylglycol, styrène glycol	
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires	<p>- <u>Etudes de terrain</u> :</p> <p>Ong et al., 1994 - exposition $\approx 40 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 34) Acide phénylglyoxylique (moyenne géométrique) : 80 mg.g^{-1} créat (FP) 30 mg.g^{-1} créat (DP lendemain)</p> <p>Prieto et al., 2002 (co-exposition acétone) Exposition $\approx 70 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 34) Acide phénylglyoxylique (moyenne géométrique) : 40 mg.g^{-1} créat (FP) 25 mg.g^{-1} créat (DP lendemain)</p> <p>Gobba et al., 1993b Exposition $\approx 115 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 65) Acide phénylglyoxylique (moyenne arithmétique) : 500 mg.L^{-1} (FP).</p> <p>Maestri et al., 1999 Exposition $\approx 100 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 22) Acide phénylglyoxylique (moyenne arithmétique) : 175 mg.g^{-1} créat (FP)</p> <p>De Rosa et al., 1988 - exposition $\approx 100 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = ?) Acide phénylglyoxylique (moyenne géométrique) : 90 mg.g^{-1} créat (FP) 60 mg.g^{-1} créat (DP lendemain)</p> <p>Calabrese et al., 1996 - exposition $\approx 150 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 20) Acide phénylglyoxylique (moyenne arithmétique) : 160 mg.g^{-1} créat (FP)</p> <p>- <u>Etudes sur volontaires</u> :</p> <p>Guillemin et al., 1976 Exposition $\approx 430 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 9) Acide phénylglyoxylique (moyenne arithmétique) : 400 mg.g^{-1} créat (FP) 200 mg.g^{-1} créat (DP lendemain)</p>	
Facteur de conversion	PM : 150 $1 \text{ mg.L}^{-1} = 0,0067 \text{ mmol.l}^{-1}$ $1 \text{ mmol.l}^{-1} = 150 \text{ mg.L}^{-1}$ 1 mg.g^{-1} créatinine = $0,75 \text{ mmol.mol}^{-1}$ créatinine 1 mmol.mol^{-1} créatinine = $1,33 \text{ mg.g}^{-1}$ créatinine	
Concentrations dans la population générale	Manini et al., 2004, population générale en Italie (n = 129) - 97 ^{ème} percentile : $1,3 \text{ mg.g}^{-1}$ créat - Médiane : NR ; moyenne géométrique : $0,11 \text{ mg.g}^{-1}$ créat	
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	USA - ACGIH (BEI)	NR
	Allemagne - DFG (BAT)	NR
	Québec - IRSST (IBE)	240 mg.g^{-1} créatinine (FP) – 2004 ^a
	Finlande - FIOH (BAL)	NR
	Belgique- UCL-TOXI (VBA)	100 mg.g^{-1} créatinine (FP) 50 mg.g^{-1} créatinine (DP) – 2007 ^a

^a Dernière mise à jour

Nom	ACIDES MANDELIQUE ET PHENYLGLYOXYLIQUE URINAIRES	
Synonymes	Idem chaque indicateur isolé	
Autres substances produisant cet IBE	Idem chaque indicateur isolé	
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires	<p>- <u>Etudes de terrain</u> :</p> <p>Ong et al., 1994 - exposition $\approx 40 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 34) Acide mandélique + acide phénylglyoxylique (moyenne géométrique) : 190 mg.g^{-1} créat (FP) 35 mg.g^{-1} créat (DP lendemain)</p> <p>Maestri et al., 1999 - exposition $\approx 100 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 22) Acide mandélique + acide phénylglyoxylique (moyenne arithmétique) : 775 mg.g^{-1} créat (FP)</p> <p>Gobba et al., 1993b - exposition $\approx 115 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 65) Acide mandélique + acide phénylglyoxylique (moyenne arithmétique) : 1 980 mg.L^{-1} (FP).</p> <p>Calabrese et al., 1996 - exposition $\approx 150 \text{ mg.m}^{-3}$ (n = 20) Acide mandélique + acide phénylglyoxylique (moyenne arithmétique) : 360 mg.g^{-1} créat (FP)</p> <p>- <u>Etudes sur volontaires</u> :</p> <p>Guillemin et al., 1976 - exposition $\approx 430 \text{ mg.m}^{-3}$ (n= 9) Acide mandélique + acide phénylglyoxylique (moyenne arithmétique) : 1500 mg.g^{-1} créat (FP) 350 mg.g^{-1} créat (DP lendemain)</p>	
Facteur de conversion	Idem chaque indicateur isolé	
Concentration dans la population générale	Manini et al., 2004, population générale en Italie (n = 129) - 97 ^{ème} percentile : 3,03 mg.g^{-1} créat - Médiane : NR ; moyenne géométrique : 0,61 mg.g^{-1} créat	
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	USA - ACGIH (BEI)	400 mg.g^{-1} créat (FP) – 2003 ^a
	Allemagne - DFG (BAT)	600 mg.g^{-1} créat (FP - FS) – 2002 ^a
	Québec - IRSST (IBE)	NR
	Finlande - FIOH (BAL)	150 mg.L^{-1} (DP - FS) – 2009 ^b
	Suisse – SUVA (VBT)	500 mg.g^{-1} créat (FP) – 2012 ^b

^a Dernière modification^b Dernière mise à jour

3.1.2 Avantages et limites des indicateurs biologiques d'exposition identifiés

Styrène urinaire

Il a été démontré que le dosage du styrène dans les urines en fin de poste de travail est une méthode particulièrement utile, simple, rapide et non invasive pour la surveillance biologique d'exposition (Gobba et al., 1993b). Une corrélation significative a été observée, d'une part, entre la concentration du styrène atmosphérique et celle du styrène urinaire ($r = 0,89$) et, d'autre part, entre les concentrations sanguine et urinaire du styrène ($r = 0,732$; $p < 0,001$). Le même groupe de chercheurs a recommandé d'utiliser la concentration urinaire du styrène comme indicateur biologique d'exposition. Il s'agit d'un paramètre spécifique et non influencé par l'exposition à d'autres solvants (par exemple l'acétone) (Imbriani et al., 1986 ; Prieto et al., 2002).

A l'opposé, Ong et al. considèrent la concentration du styrène urinaire comme un indicateur biologique d'exposition assez peu sensible aux faibles concentrations du styrène comparativement aux autres indicateurs que sont les concentrations du styrène dans le sang ou dans l'air exhalé. Ces auteurs trouvent une faible corrélation ($r = 0,24$, $p < 0,01$) entre les concentrations de styrène urinaire en fin de poste et atmosphérique pour des expositions de l'ordre de 40 mg.m^{-3} . Il faut noter que dans cette étude, la méthode d'analyse utilisée pour le dosage du styrène dans l'urine n'était pas très adaptée puisque la limite de détection était de $20 \mu\text{g.l}^{-1}$ (Ong et al., 1994) ce qui signifie qu'aux niveaux d'exposition de 10 ppm on est dans le bruit de fond.

Styrène sanguin

Utilisant une technique relativement simple, Ong et al. ont démontré une relation linéaire statistiquement significative entre la concentration sanguine et la concentration atmosphérique du styrène ($r = 0,87$; $p < 0,001$). Les résultats obtenus suggèrent que la mesure de la concentration sanguine est fiable et sensible même aux faibles concentrations de styrène (i.e., 10 ppm). Le coefficient de variation pour la détermination du styrène sanguin était de 3,3% au cours de la journée et de 8,8% entre les journées. (Ong et al., 1994).

De son côté, Prieto trouve que la concentration de styrène dans le sang est bien corrélée à l'exposition atmosphérique et non influencée par l'exposition à d'autres solvants (par exemple l'acétone) (Prieto et al., 2002).

Dans une étude de terrain menée sur des travailleurs ($n=34$) exposés simultanément à des concentrations relativement faibles de toluène, de styrène et de méthanol (respectivement à des concentrations moyennes géométriques de 7,3; 4,7 et 15,9 ppm) l'équipe de Kawai a montré une relation linéaire entre les concentrations dans le sang en fin d'exposition et l'exposition atmosphérique pour chaque solvant, cette corrélation étant particulièrement bonne ($r = 0,834$; $p < 0,01$) pour le styrène (Kawai et al., 1992). A ces niveaux relativement faibles, la co-exposition avec d'autres solvants ne semble pas modifier la corrélation « styrène dans le sang - styrène dans l'air » de manière statistiquement significative.

Par contre, en relation avec la première demi-vie de 36 minutes, la concentration de styrène dans le sang varie rapidement et est très sensible aux fluctuations de la concentration atmosphérique du styrène. Elle donne donc un reflet de l'exposition juste antérieure au moment du prélèvement et intègre peu ce qui a eu lieu dans les dernières heures rendant assez difficile l'interprétation des résultats.

Malgré les conclusions de ces trois études, des raisons pratiques - difficultés d'ordre pré-analytique (transfert du sang dans les flacons d'analyse et coagulation du sang lors du chauffage de l'échantillon requis pour l'injection de l'espace de tête) et le fait que les prises de sang sont généralement moins bien acceptées par les travailleurs que des récoltes d'urine - font que lorsque le choix d'un IBE tout aussi valable existe, l'utilisation de prélèvement de sang à des fins de surveillance biologique courante n'est pas recommandée pour des raisons de confort (Ong et al., 1994 ; Engstrom, 1984).

Styrène air expiré

Le dosage du styrène dans l'air expiré, immédiatement en fin de poste de travail, a montré une bonne corrélation ($r = 0,76$; $p < 0,005$) entre les concentrations de styrène atmosphériques et celles dans l'air exhalé. Cette méthode spécifique pour la surveillance biologique d'exposition présente des avantages puisqu'elle est non invasive et sensible aux faibles concentrations de styrène (limite de détection environ 20 ppb) (Ong et al., 1994). Elle est malgré tout pratiquement inutilisable sur le terrain en raison des difficultés de conservation des échantillons après le prélèvement.

Acide mandélique urinaire

L'acide mandélique est le principal métabolite du styrène et est largement utilisé pour la surveillance biologique d'exposition. Suite à une exposition de huit heures, Ong et al. ont observé une corrélation positive entre la concentration urinaire d'acide mandélique et la concentration atmosphérique du styrène ($r = 0,59$). Une normalisation des résultats urinaires par la gravité spécifique et mieux encore par la créatinine améliorerait cette corrélation avec des coefficients atteignant respectivement 0,66 et 0,83 (Ong et al. 1994).

D'après l'étude de Kawai, la co-exposition au styrène avec du toluène et du méthanol diminuerait de manière statistiquement significative ($p > 0,05$) la quantité de métabolites urinaires du styrène en fin d'exposition (Kawai et al., 1992).

Le métabolisme du styrène en ses acides mandélique et phénylglyoxylique est inhibée par l'administration d'alcool concomitante à l'exposition au styrène. Les différences observées présentent des variations intra-individuelles résultant des différences d'induction des systèmes enzymatiques (Cerny et al., 1990). Il s'agit non seulement d'induction mais surtout d'un retard à l'élimination de l'acide mandélique dû à la monopolisation des systèmes enzymatiques alcool déshydrogénase et aldéhyde déshydrogénase par l'éthanol qui est présent dans l'organisme à des concentrations 500 à 1000 fois supérieures à celles de styrène glycol résultant d'une exposition professionnelle au styrène (Berode et al., 1986).

En vue de comparer la pertinence des différents biomarqueurs d'exposition au styrène, l'équipe de Fustinoni a réalisé un suivi systématique pendant 6 semaines de l'exposition de 18 salariés (ateliers de vernis et plastique renforcé à la fibre de verre). De l'analyse statistique prenant en compte les variabilités inter et intra-individuelles et la variabilité de l'exposition, il ressort de cette étude que l'acide mandélique urinaire et la somme des acides mandélique et phénylglyoxylique sont les meilleurs biomarqueurs d'exposition (Fustinoni et al., 2010).

Acide phénylglyoxylique urinaire

La détermination de la concentration urinaire de l'acide phénylglyoxylique (environ 33% du styrène absorbé) pourrait être complémentaire à celle de l'acide mandélique, l'acide phénylglyoxylique étant le métabolite dérivant de l'oxydation de l'acide mandélique. Ong et al. ont observé une corrélation entre la concentration journalière (huit heures) du styrène atmosphérique et la concentration urinaire de l'acide phénylglyoxylique ($r = 0,72$, $r = 0,80$ après la normalisation par la gravité spécifique et $r = 0,84$ après correction par la créatinine) (Ong et al., 1994).

Plusieurs d'auteurs soulignent le caractère relativement instable de l'acide phénylglyoxylique dans l'urine (Guillemin et al., 1976 ; Kivistö et al., 1993 ; Eitaki et al., 2008). Certains auteurs proposent de réduire l'acide phénylglyoxylique en acide mandélique par de l'hydrogène natif formé dans un aliquot de l'échantillon d'urine par réaction d'acide sulfurique sur des copeaux de zinc (Guillemin et al., 1976) et de doser l'acide mandélique seul dans la fraction originelle et l'acide mandélique total dans l'aliquot transformé. La concentration d'acide phénylglyoxylique étant calculée par différence entre les concentrations de ces deux fractions. Eitaki signale que l'acide phénylglyoxylique est particulièrement instable dès le premier jour dans les milieux alcalins (pH 8) même pour des urines conservées à 4°C, alors qu'à ces températures l'acide mandélique est stable pendant au moins deux semaines. Les auteurs (Eitaki et al., 2008) recommandent d'effectuer le dosage le jour même de la prise d'échantillon ou alors de conserver les échantillons à -20°C jusqu'à l'analyse.

Somme des acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires

Les acides mandélique et phénylglyoxylique sont les indicateurs les plus utilisés et les mieux documentés dans le cadre de la surveillance biologique de l'exposition au styrène. Plusieurs auteurs s'accordent sur le fait que la somme des concentrations urinaires des acides mandélique et phénylglyoxylique en fin de poste de travail (huit heures) constitue l'indicateur biologique qui présente la meilleure corrélation avec l'exposition ($r = 86$) (Ong et al., 1994 ; Prieto et al., 2002).

Dans une autre étude, De Rosa et al. ont observé une bonne corrélation entre le niveau d'exposition atmosphérique et la somme des concentrations urinaires des acides mandélique et phénylglyoxylique ($r = 0,74$ en fin de poste, $r = 0,86$ le lendemain en début de poste). Ces données confirment que la somme de ces métabolites peut être un bon indicateur biologique d'exposition (De Rosa et al., 1988).

Principaux avantages et limites des indicateurs biologiques d'exposition identifiés

Analyte	Matrice	Avantages	Inconvénients
Styrène	Urines	Spécifique Peu influencé par des expositions à d'autres solvants Prélèvements non invasifs Bien corrélé avec les concentrations atmosphériques	Risque possible de contamination par l'air du local dans lequel a lieu le prélèvement. Nécessité d'une bonne sensibilité analytique Pas de données de cinétique
Styrène	Sang	Spécifique Peu influencé par des expositions à d'autres solvants Bien corrélé avec les concentrations atmosphériques	Prélèvements invasifs Risque de contamination des prélèvements
Styrène	Air exhalé	Spécifique Prélèvements non invasifs Bien corrélé avec les concentrations atmosphériques	Difficulté de conservation de l'échantillon d'air expiré.
acide mandélique	Urines	Prélèvements non invasifs Bien corrélé avec les concentrations atmosphériques Demi-vie permettant des prélèvements en fin de poste	Indirectement influencé par l'instabilité de l'acide phénylglyoxylique qui reforme l'acide mandélique
acide phénylglyoxylique	Urines	Prélèvements non invasifs Bien corrélé avec les concentrations atmosphériques Demi-vie permettant des prélèvements en fin de poste	Instabilité de l'acide phénylglyoxylique dans des urines à température ambiante. Ce qui nécessite une analyse immédiate ou une conservation de deux jours maximum à 4°C ou à -20°C.
acide mandélique + acide phénylglyoxylique	Urines	Prélèvements non invasifs Bien corrélé avec les concentrations atmosphériques Demi-vies spécifiques de chaque acide permettant des prélèvements en fin de poste. Comme l'instabilité de l'acide phénylglyoxylique conduit à reformer de l'acide mandélique, le fait de sommer ces deux acides permet de ne plus être dépendant de cette instabilité.	Il peut sembler scientifiquement incorrect d'additionner deux produits sans avoir recours aux unités molaires. Dans le cas de ces acides dont les masses moléculaires sont très voisines (2 atomes H de différence), l'approximation même si elle n'est pas rigoureusement exacte est acceptable.

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

Pour le styrène, cinq IBE sont disponibles et bien documentés. Ce sont : le styrène dans l'urine, le styrène dans le sang, le styrène dans l'air expiré, l'acide mandélique dans l'urine et l'acide phénylglyoxylique dans l'urine. La somme des deux acides mandélique et phénylglyoxylique est aussi reconnu comme indicateur biologique d'exposition très intéressant.

En raison de leur spécificité et de leur bonne corrélation avec l'exposition atmosphérique, les trois IBE qui consistent à doser le styrène inchangé dans l'air expiré, le sang ou l'urine, sont théoriquement des biomarqueurs de choix et fournissent un niveau d'information quant à l'exposition assez comparable.

Cependant, en raison des inconvénients liés aux modalités de transport et de conservation des prélèvements (reproductibilité des dosages), les dosages du styrène dans l'air expiré ne peuvent raisonnablement pas être proposés pour le suivi biologique de travailleurs exposés à ce solvant. De même, des difficultés d'ordre pré-analytique (transfert du sang dans les flacons d'analyse et coagulation du sang lors du chauffage de l'échantillon requis pour l'injection de l'espace de tête) et de l'invasivité des prélèvements font que le dosage du styrène dans le sang n'a pas été retenu comme IBE pertinent. Conformément aux usages de la surveillance biologique de l'exposition professionnelle qui veut que lorsque le choix d'un IBE tout aussi valable existe, dans la mesure où le dosage du styrène dans le sang ne présente pas plus d'avantage (spécificité, sensibilité) que le dosage du styrène urinaire, l'utilisation de prélèvement de sang à des fins de surveillance biologique courante n'est pas recommandée pour des raisons d'invasivité du prélèvement. Parmi les dosages proposés du styrène dans un milieu biologique, c'est donc **le dosage du styrène urinaire qui sera retenu comme pertinent.**

Les acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires sont aussi pertinents non seulement parce qu'ils représentent à eux seuls plus de 90% de la masse de solvant absorbé, mais aussi en raison de leur bonne corrélation avec l'exposition, de leur demi-vie de plusieurs heures permettant ainsi un prélèvement en fin de poste. Le fait que ces indicateurs soient bien documentés et largement utilisés dans le cadre de la surveillance biologique de l'exposition au styrène présente aussi un avantage non négligeable.

Cependant, vu l'instabilité de l'acide phénylglyoxylique dans l'urine, le dosage de ce métabolite seul n'est pas jugé pertinent. En revanche, comme l'instabilité de l'acide phénylglyoxylique conduit à reformer de l'acide mandélique, le dosage de la somme de ces deux métabolites permet de s'affranchir de cet inconvénient et constitue de ce fait un biomarqueur d'exposition plus robuste que le dosage de l'acide mandélique seul.

Ce sont donc le styrène urinaire et les acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires additionnés qui ont été retenus comme pertinents pour la surveillance biologique de l'exposition au styrène.

Le dosage de l'acide mandélique seul, bien qu'influencé par l'instabilité de l'acide phénylglyoxylique, reste malgré tout un indicateur biologique intéressant pour le suivi de l'exposition au styrène. Les informations relatives à chacun des acides mandélique et phénylglyoxylique pris séparément sont présentées en

Annexe 1.

3.2 Indicateurs biologiques d'effets disponibles

Les effets observés chez l'homme suite à l'exposition chronique au styrène concernent des organes cibles très variés. Les effets les plus fréquemment décrits sont de type neurotoxique, mais des effets respiratoires, cardiovasculaires, digestifs, hématologiques, hépatiques, rénaux, endocriniens et immunologiques ont également été rapportés (Afsset, Rapport « VLEP : santé et métrologie du styrène, 2009).

L'atteinte du système nerveux périphérique a été largement étudiée mais les résultats des différentes études signalant une diminution de la vitesse de conduction sont assez discordants. Lorsqu'ils sont signalés, les effets neurotoxiques dus à l'exposition au styrène sont réversibles, du moins en partie, après arrêt de l'exposition.

Des effets sur l'audition ont également été signalés mais non démontrés par la pratique d'audiogramme (INRS, fiche toxicologique Styrène, 2006). Une analyse récente de la littérature Vyskocil et al., 2011) publiée par l'IRSSST fait le point sur la question de l'ototoxicité du styrène. Les auteurs écrivent : « *Récemment, Lawton et coll. (Lawton 2006) ont passé en revue un certain nombre d'études effectuées dans le milieu de travail portant sur l'exposition et sur la relation entre le styrène inhalé et la perte auditive. Dans douze études, les différences de seuils auditifs ont servi à la catégorisation des travailleurs en groupe exposé ou non exposé au styrène. Parmi les douze études, quatre n'ont observé aucune preuve en faveur d'un effet du styrène sur les seuils auditifs (Möller 1990 ; Sass-Kortsak, 1995 ; Calabrese, 1996 ; Hoffmann, 2006). Deux études se sont limitées aux effets du styrène dans la région des hautes fréquences (Muijser, 1988 ; Morioka, 1999) sans compter que dans l'une d'entre elles, les travailleurs ont été exposés également à d'autres solvants (Morioka, 1999). En revanche, six études indiquent des pertes auditives induites par le styrène (Sliwinska-Kowalska, 2003 ; Morata, 2002 ; Sliwinska-Kowalska, 2005 ; Morioka, 1999 ; Mascagni, 2007 ; Triebig, 2009). Cependant, seule l'étude de Morioka (1999) a trouvé une relation dose-réponse.* ».

L'effet du styrène sur la perception des couleurs a été observé pour des niveaux d'exposition supérieurs à 20 ppm (Triebig et al., 2001 ; Gong et al., 2002 ; Campagna et al., 1995). Il s'agit en général d'effets réversibles qui cessent après l'arrêt de l'exposition (Gobba et al., 1993a). Les résultats d'une étude menée par Seeber sur un collectif de 97 travailleurs de chantiers navals exposés depuis plus de 15 ans à des niveaux moyens de styrène dans l'air de 27 ppm avec des pointes à 54 ppm ne montrent aucun risque d'altération de la perception des couleurs ou de la diminution de la sensibilité aux contrastes (Seeber et al., 2009).

Les résultats des tests biologiques de mesure de l'inhibition de la dopamine β -hydroxylase sérique et de l'augmentation de la prolactine sérique sont rapportés (Bergamaschi et al., 1997) mais semblent liés à des expositions aiguës.

Godderis et al. (2004) ont aussi mis en évidence des dommages de l'ADN et une altération de la capacité de réparation de l'ADN. Ces altérations présentent une variabilité interindividuelle en relation avec la durée de l'exposition, les habitudes tabagiques et le polymorphisme d'un gène lié à la réplication de l'ADN (XRCC1). La mise en évidence d'une éventuelle génotoxicité par la recherche de micronoyaux, d'échanges de chromatides sœurs, de cassures de brin d'ADN et la formation d'adduits de l'ADN a fait l'objet de très nombreuses publications mais les résultats restent très ambigus. Cependant, une étude récente (Wongvijitsuk et al., 2011) montre une augmentation statistiquement significative d'effets génotoxiques mesurés par le test des comètes et la formation de 8-hydroxydeoxyguanosine pour les groupes les plus exposés.

L'effet cancérigène du styrène avec augmentation des cancers des systèmes lymphatiques et hématologiques a été observé dans l'industrie de la production du caoutchouc styrène-butadiène. Lorsque le butadiène est absent, les études ne montrent pas de relation entre styrène et cancers même pour des niveaux d'exposition assez importants.

Les résultats des études visant à mettre en évidence des effets sur la reproduction sont généralement négatifs.

Tous ces effets décrits et largement étudiés ne permettent pas de proposer pour la surveillance biologique un ou des indicateurs biologiques d'effet.

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

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

4.1.1 Styrène urinaire

Une étude de Gobba et al., (1993a) porte sur 73 travailleurs de l'industrie du plastique (renforcé par de la fibre de verre). La moyenne des concentrations atmosphériques est égale à 64 mg.m^{-3} (16 ppm) et les concentrations urinaires de styrène peuvent atteindre $69 \mu\text{g.L}^{-1}$ (la moyenne n'est pas renseignée). Les auteurs rapportent une augmentation significative de la prévalence des dyschromatopsies dans le groupe des travailleurs exposés par rapport au groupe contrôle (53 témoins non professionnellement exposés).

4.1.2 Somme des concentrations des acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires

Une étude de Calabrese et al. (1996) porte sur 20 travailleurs de l'industrie de la fibre de verre (co-exposition à l'acétone) avec une durée moyenne de travail égale à 7 ans (entre 2 et 23 ans). Les prélèvements urinaires sont effectués en fin de poste et en début de poste le lendemain et des prélèvements atmosphériques sont réalisés individuellement. Les concentrations sont comprises entre 14 et 416 mg.m^{-3} pour le styrène et entre 70 et 277 mg.m^{-3} pour l'acétone. La moyenne des concentrations atmosphériques de styrène est égale à $156,2 \text{ mg.m}^{-3}$ ($\pm 86,6$). La moyenne des concentrations d'acide mandélique et d'acide phénylglyoxylique (somme) en fin de poste est égale à $348,1 \text{ mg.g}^{-1}$ de créatinine ($\pm 196,7$). Les auteurs rapportent que l'exposition au styrène à ces niveaux relativement bas à modérés ne semble pas affecter l'audition. Malgré l'absence de signes ou symptômes cliniques, les auteurs rappellent que c'est le système vestibulaire qui est considéré comme particulièrement sensible aux effets toxiques du styrène.

Une étude de Toppila et al. (2006) porte sur 252 travailleurs de l'industrie du plastique renforcé. Des prélèvements urinaires ont été réalisés pour l'ensemble des travailleurs en début de poste et des prélèvements atmosphériques individuels ont été réalisés pour 148 d'entre eux. La moyenne des concentrations d'acide mandélique et d'acide phénylglyoxylique (somme) est égale à $1,4 \text{ mmol.L}^{-1}$ et la moyenne des concentrations atmosphériques de toluène est égale à 116 mg.m^{-3} (± 119). Les auteurs rapportent que l'exposition à ces faibles concentrations de styrène affecte la stabilité posturale, ce qui révèle un trouble de l'équilibre. Les auteurs de cette étude ont conclu que le trouble de l'équilibre commence chez les jeunes travailleurs et s'aggrave avec l'âge. La différence est significative ($p=0,003$) entre le groupe de lamineurs et le groupe de non lamineurs. Il est à noter que les expositions et les concentrations sont très peu documentées dans cette étude, ne permettant une analyse de la relation dose-réponse.

Une étude de Triebig et al. (2001) porte sur 22 travailleurs d'une fabrique de bateaux avec une durée moyenne de travail de 4,5 ans (1 à 21 ans). La concentration moyenne d'acide mandélique et d'acide phénylglyoxylique en fin de poste est égale à 472 mg.g^{-1} de créatinine (de 11 à 2399). Les auteurs rapportent une augmentation de la prévalence des dyschromatopsies chez les travailleurs exposés au styrène par rapport au groupe contrôle (11 témoins non professionnellement exposés). Les auteurs ont noté que cet effet est réversible après quatre semaines sans exposition ($p=0,01$).

Une étude de Mutti portant sur un collectif de 50 travailleurs exposés au styrène et sur un groupe de contrôles appariés a mis en évidence une altération de l'apprentissage des mots chez les travailleurs ayant des taux urinaires de la somme des acides mandélique et phénylglyoxylique supérieurs à 200 mg.g^{-1} créatinine ($150 \text{ mmol.mol}^{-1}$ de créatinine) et une altération de la mémoire logique et des troubles de la perception visuelle chez les travailleurs ayant des taux urinaires d'acides mandélique et phénylglyoxylique supérieurs à 400 mg.g^{-1} créatinine ($300 \text{ mmol.mol}^{-1}$ de créatinine) (Mutti et al., 1984).

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

4.2.1 Styrène urinaire

Une étude de Prieto et al. (2002) porte sur 34 travailleurs de l'industrie du plastique renforcé (construction de bateaux) (co-expositions à l'acétone). Des prélèvements urinaires et sanguins sont réalisés en fin de poste d'une demi-journée de travail et le lendemain en début de poste et des prélèvements atmosphériques sont réalisés individuellement pendant 4 heures (dosimètres passifs). La moyenne (arithmétique) des concentrations atmosphériques de styrène est égale à $70,5 \text{ mg.m}^{-3}$ (de 15 à 157) et à $370,5 \text{ mg.m}^{-3}$ pour l'acétone. La médiane des concentrations urinaires de styrène en fin de poste (demi-journée) est égale à $5,2 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ (de 1,7 à 15,3) et à $2,7 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ (de 1 à 6,3 $\mu\text{g.L}^{-1}$) en début de poste le lendemain (limite de détection de $0,4 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$). Les auteurs rapportent une forte corrélation entre les concentrations urinaires de styrène en fin de demi-journée ou en début de poste et les concentrations atmosphériques de styrène sur 4 heures ($r = 0,788$ et $0,65$ respectivement). La corrélation rapportée et l'équation de régression ne sont cependant valables que pour des suivis d'exposition de 4 heures.

Une étude de Maestri et al. (1999) porte sur 22 travailleurs de l'industrie du plastique renforcé. Des prélèvements urinaires sont réalisés en fin de poste et des prélèvements atmosphériques sont réalisés individuellement (dosimètres passifs). La moyenne (arithmétique) des concentrations atmosphériques est égale $112,7 \text{ mg.m}^{-3}$ (de 40 à 230) et la moyenne (arithmétique) des concentrations urinaires de styrène en fin de poste est égale à $25,6 (\pm 18,2 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1})$. Les auteurs rapportent une forte corrélation entre les concentrations urinaires de styrène en fin de poste et les concentrations atmosphériques de styrène ($r = 0,83$).

Une étude d'Ong et al. (1994) porte sur 39 travailleurs de l'industrie du plastique renforcé. Des prélèvements urinaires et sanguins sont réalisés en fin de poste et en début de poste le lendemain et des prélèvements atmosphériques sont réalisés individuellement (dosimètres passifs). La moyenne géométrique des concentrations atmosphériques est égale à 46 mg.m^{-3} , (0,9 à 139,8) (10,6 ppm dans l'étude ; de 0,2 à 32,3) et la moyenne géométrique des concentrations urinaires de styrène en fin de poste est égale à $26,3 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ (8 à 83,2). Il est cependant à noter que la limite de détection pour le styrène dans l'urine est de $20 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ dans cette publication, limite peu compatible avec une concentration minimum de $8 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$. Les auteurs rapportent une faible corrélation entre les concentrations urinaires de styrène en fin de poste et les concentrations atmosphériques de styrène ($r = 0,24$).

Une étude d'Imbriani et al. (1986) porte sur 69 travailleurs de l'industrie du plastique renforcé. Les échantillons d'urine urinaires sont prélevés en fin de demi-journée de travail et des prélèvements atmosphériques sont réalisés individuellement pendant les 4 heures correspondantes. La médiane des concentrations atmosphériques est égale à 109 mg.m^{-3} et la médiane des concentrations urinaires de styrène en fin de demi-journée est égale à $51 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$. Les auteurs rapportent une très forte corrélation entre les concentrations urinaires de styrène en fin de demi-journée de travail et les concentrations atmosphériques sur 4 heures ($r = 0,89$). Comme pour l'étude de Prieto, la corrélation rapportée et l'équation de régression ne sont valables que pour des suivis d'exposition de 4 heures.

Une étude de Gobba et al., (1993b) portant sur 214 travailleurs provenant de 10 ateliers de l'industrie du plastique renforcé par de la fibre de verre ont été suivis pour leur exposition atmosphérique au styrène par des prélèvements passifs personnels de 4 heures (chaque demi-journée). Le styrène urinaire est mesuré dans les échantillons prélevés à la fin de chaque demi-journée. La concentration atmosphérique pondérée sur 8 heures est égale à 90 (de 2,4 à 770,4) mg.m^{-3} et la moyenne des concentrations urinaire ($n = 198$) est égale à $58 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ (de 2 à 209). Les corrélations obtenues entre les concentrations urinaires de styrène en fin de demi-journée et les concentrations atmosphériques de 4 heures sont excellentes ($r = 0,82$ pour le matin et $r = 0,87$ pour l'après-midi). La corrélation reste très bonne si on moyenne les résultats de la journée entière ($r = 0,88$).

Synthèse des concentrations de styrène urinaire, calculées à partir des données permettant de relier les concentrations biologiques aux concentrations atmosphériques de styrène

Equations reliant l'exposition aux concentrations urinaires de styrène	[STYRu] ($\mu\text{g.L}^{-1}$) pour 100 mg.m^{-3} (VLEP-8h) (23 ppm)	Référence
Etudes de terrain		
[STYRu] ($\mu\text{g.L}^{-1}$) = $0,32 [\text{STYRa}] (\text{mg.m}^{-3}) + 16,1$ Urine fin demi-journée ; n=69 ; r = 0,89 ; p = NR	48	Imbriani et al., 1986 ^a
[STYRu] ($\mu\text{g.L}^{-1}$) = $0,267 [\text{STYRa}] (\text{mg.m}^{-3}) - 4,5$ Urine FP ; n = 22 ; r = 0,83 ; p < 0,0001	22	Maestri et al., 1999 ^{b*}
STYRu] ($\mu\text{g.L}^{-1}$) = $0,058 [\text{STYRa}] (\text{mg.m}^{-3}) + 1,626$ Urine fin demi-journée ; n = 34 ; r = 0,788 ; p < 0,001	7	Prieto et al., 2002 ^{a*}
[STYRu] ($\mu\text{g.L}^{-1}$) = $0,56 [\text{STYRa}] (\text{ppm}) + 32$ Urine FP ; n = 39 ; r = 0,24 ; p < 0,01	45	Ong et al., 1994 ^{b*}
[STYRu] (nmol.L^{-1}) = $0,29 [\text{STYRa}] (\mu\text{mol.L}^{-1}) + 129,17$ Urine FP ; n = 198 ; r = 0,88 ; p = NR	42	Gobba et al., 1993 ^{b*}

^a Prélèvements atmosphériques sur 4 heures

^b Prélèvements atmosphériques sur 8 heures

* Prélèvements passifs

4.2.2 Somme des acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires

Les études d'Ong et al. (1994) et de Prieto et al. (2002) rapportent de fortes corrélations entre la somme des concentrations urinaires d'acide mandélique et acide phénylglyoxylique en fin de poste, normalisées sur la créatininurie, et les concentrations atmosphériques de styrène, avec des coefficients de corrélation de 0,86. La somme des concentrations urinaires d'acide mandélique et d'acide phénylglyoxylique en fin de poste était de 187,3 mg.g⁻¹ de créatinine dans l'étude d'Ong et al. (1994) et de 147,1 mg.g⁻¹ de créatinine dans l'étude de Prieto et al. (2002). Ong et al. (1994) rapportent des corrélations plus fortes lorsque les concentrations d'acide mandélique et d'acide phénylglyoxylique sont normalisées sur la créatininurie avec, pour les concentrations urinaires en fin de poste, un coefficient de corrélation de 0,79 sans normalisation et 0,86 avec normalisation.

En revanche, De Rosa et al. (1988) rapportent une plus forte corrélation entre les concentrations atmosphériques de styrène et la somme des concentrations urinaires d'acide mandélique et d'acide phénylglyoxylique en début de poste le lendemain d'une exposition qu'en fin de poste la veille, avec des coefficients de corrélation respectivement en début et fin de poste de 0,86 et 0,74. Ce résultat a été affiné par la suite en précisant que la corrélation entre les concentrations atmosphériques et la somme des concentrations urinaires (normalisées sur la créatininurie) est plus forte le 2^{ème} jour en DP que le 1^{er} jour en FP (coefficients de corrélations respectivement de 0,86 et 0,7). En milieu de semaine cependant, la corrélation est plus forte en fin de poste (jeudi) qu'en début de poste (vendredi), avec des coefficients de corrélation respectivement de 0,95 et 0,85. La moyenne (arithmétique) de la somme des concentrations urinaires d'acide mandélique et d'acide phénylglyoxylique (en mg.g⁻¹ de créatinine) était de 591,4 mg.g⁻¹ de créatinine (45 à 1 702) en FP le lundi, 318,4 (39 à 975) en DP le mardi, 764,3 (109 à 1 734) en FP le jeudi et 436,3 (79 à 1 311) en DP le vendredi. Les concentrations atmosphériques, prises individuelles sur 8 heures avec un dosimètre passif (jour non renseigné) sont comprises entre 22 et 522 mg.m⁻³.

Il a été possible, avec la publication d'Apostoli et al. (1983) de calculer une équation de régression linéaire à partir des données brutes de l'étude entre les concentrations atmosphériques de styrène et les concentrations urinaires d'acide mandélique +acide phénylglyoxylique (sans normalisation par la créatininurie). Le coefficient de corrélation calculée est égal à 0,44. Les concentrations atmosphériques ont été mesurées sur 4 prélèvements de 15 minutes, peu adapté à l'étude des corrélations entre les concentrations d'IBE et les concentrations atmosphériques d'une journée de travail. La moyenne (arithmétique) des concentrations urinaires d'acide mandélique +acide phénylglyoxylique était égale à 1 135 mg.L⁻¹. L'équation rapportée pour les concentrations normalisées présente des erreurs, il n'est donc pas possible de la prendre en compte (Gobba et al. 1995).

L'étude de Gobba et al., (1993b) rapporte une bonne corrélation entre les concentrations atmosphériques et la somme des concentrations d'acide mandélique et d'acide phénylglyoxylique dans les urines de fin de poste ($r = 0,81$) ou dans les urines du lendemain matin ($r = 0,50$). La moyenne des concentrations urinaires d'acide mandélique+acide phénylglyoxylique pour 1 sous-groupe de travailleurs ($n = 65$) est égale à 1980 mg.L⁻¹ (47,12 à 8 089,4).

Synthèse des concentrations d'acide mandélique + acide phénylglyoxylique urinaire (AMu+APu), calculées à partir des données permettant de relier les concentrations biologiques aux concentrations atmosphériques de styrène

Equations reliant l'exposition aux concentrations urinaires d'acide mandélique + acide phénylglyoxylique	[AMu + APu] pour 100 mg.m ⁻³ (VLEP-8h) (23 ppm)	Référence
Etudes de terrain		
[AMu+APu] (mg.g ⁻¹ cr) = 1,98 [STYRa] (mg.m ⁻³) + 147,55 Urines de lundi FP ; n = 22 ; r = 0,7 ; p < 0,001	346 mg.g ⁻¹ cr	De Rosa et al.1993 ^{a*}
[AMu+APu] (mg.g ⁻¹ cr) = 1,31 [STYRa] (mg.m ⁻³) + 25,76 Urines de mardi FP ; r = 0,86 ; p < 0,001	157 mg.g ⁻¹ cr	
[AMu+APu] (mg.g ⁻¹ cr) = 3,56 [STYRa] (mg.m ⁻³) + 44,6 Urines de jeudi FP ; r = 0,95 ; p < 0,001	400 mg.g ⁻¹ cr	
[AMu+APu] (mg.g ⁻¹ cr) = 2,19 [STYRa] (mg.m ⁻³) + 6,38 Urines de vendredi FP ; r = 0,85 ; p < 0,001	225 mg.g ⁻¹ cr	
[AMu+APu] (mg.L ⁻¹) = 21,10 [STYRa] (ppm) + 72 Urines de FP ; n = 39 ; r = 0,79	557 mg.L ⁻¹	Ong et al., 1994 ^{a*}
[AMu+APu] (mg.g ⁻¹ cr) = 4,64 [STYRa] (mg.m ⁻³) + 55,43 Urines de FP ; n = 20 ; r = 0,74 ; p < 0,001	520 mg.g ⁻¹ cr	De Rosa et al., 1988 ^{a*}
[AMu+APu] (mg.g ⁻¹ cr) = 1,85 [STYRa] (mg.m ⁻³) + 20,40 Urines de DP (lendemain) ; r = 0,86 ; p < 0,001	205 mg.g ⁻¹ cr	
[AMu+APu] (mmol.l ⁻¹) = 0,007 [STYRa] (μmol.m ⁻³) + 1,13 Urines de FP ; n = 64 ; r = 0,78	1185 mg.L ⁻¹	Gobba et al., 1993b ^{a*}
[AMu+APu] (mmol.l ⁻¹) = 0,002 [STYRa] (μmol.m ⁻³) + 1,39 Urines de DP (lendemain) ; n = 58 ; r = 0,50	503 mg.L ⁻¹	
[AMu + APu] (μg.g ⁻¹ cr) = 1,560 [STYRa] (mg.m ⁻³) + 37,14 Urines fin demi-journée ; n = 34 ; r = 0,841 ; p < 0,001	193 mg.g ⁻¹ cr	Prieto et al., 2002 ^{b*}
[AMu+APu] (mg.L ⁻¹) = 2,528 [STYRa] (mg.m ⁻³) + 221,43 Urines FP ; n = 22 ; r = 0,44	474 mg.L ⁻¹	Apostoli et al., 1983 ^{c**}

^a Prélèvements atmosphériques sur 8 heures

^b : prélèvement atmosphérique sur 4 heures

^c : Quatre prélèvements atmosphériques sur 15 minutes

* Prélèvements passifs

** Prélèvements actifs

4.3 Facteurs pouvant influencer l'interprétation des résultats

Styrène urinaire	
Traitement médicamenteux	Certains médicaments (INRS, 2010)
Prise alimentaire	Alcool
Tabac	Oui (présence de styrène dans la fumée de cigarette). Darall et al., 1998
Facteurs individuels physiologiques ou pathologiques	Facteurs individuels
Co-exposition à une ou plusieurs substance(s)	Non
Voie(s) d'exposition(s), description de la tâche	NR
Activité physique, effort, ...	NR
Fréquence et durée de l'exposition	Il faut tenir compte du timing de l'exposition de la journée et des expositions antérieures

acide mandélique et somme des acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires	
Traitement médicamenteux	La prise de certains médicaments peut être une source d'interférence (ACGIH 2007).
Prise alimentaire	L'éthanol inhibe la transformation du styrène glycol en acides mandélique et phénylglyoxylique. La prise d'alcool au repas de midi, par exemple, peut provoquer une diminution de l'excrétion urinaire des métabolites et le dosage de ces acides dans l'urine de fin de poste pourrait conduire à une sous-estimation de l'exposition.
Tabac	NR
Facteurs individuels physiologiques ou pathologiques	Le métabolisme du styrène est sous la dépendance de plusieurs systèmes enzymatiques présentant un polymorphisme génétique. Ainsi, certains groupes ethniques présentent une excrétion urinaire d'acide phénylglyoxylique plus faible pour un même niveau d'exposition. La capacité d'emmagasiner le styrène est proportionnelle à la masse adipeuse de l'individu.
Co-exposition à une ou plusieurs substance(s)	Inhibition compétitive lors d'une co-exposition à l'acétone, au méthanol, au benzène, au toluène, au xylène, à l'éthylbenzène et au phénylglycol.
Voie(s) d'exposition(s), description de la tâche	Le taux obtenu dans les prélèvements de fin de poste reflète l'exposition qui s'est produite dans la journée mais est sensible aux pics ou aux creux d'exposition des dernières heures. Si les fluctuations des niveaux d'exposition sont fréquentes et de grande intensité, le prélèvement avant le début du prochain poste est plus utile et recommandé.
Activité physique, effort	La concentration urinaire des métabolites augmente d'un facteur trois suite à une exposition au styrène impliquant une activité physique correspondant une ventilation pulmonaire de 30 l/min.
Fréquence et durée de l'exposition	Pour un même niveau d'exposition, en relation avec la demi-vie de l'acide mandélique dans l'urine qui ne permet pas une élimination complète en 24 heures, l'excrétion d'acide mandélique est plus élevée à la fin qu'au début de la semaine de travail.

4.4 Modalités de prélèvement

4.4.1 Moment du prélèvement

Styrène urinaire

La VLB ayant été calculée à partir de dosages réalisés en fin de poste, il est recommandé de réaliser des prélèvements en fin de poste, indépendamment du jour de la semaine de travail.

Acide mandélique et acide phénylglyoxylique urinaires

L'acide mandélique et l'acide phénylglyoxylique présentent deux phases d'élimination, avec une première demi-vie de 4 à 9 heures pour l'acide mandélique et 8 à 10 heures pour l'acide phénylglyoxylique et une seconde plus longue. Il est possible que l'acide mandélique et l'acide phénylglyoxylique s'accumulent au cours d'une semaine de travail. Il est donc recommandé de réaliser les prélèvements urinaires en fin de poste et éventuellement même en fin de semaine de travail pour mesurer les concentrations d'acide mandélique +acide phénylglyoxylique.

4.4.2 Méthodes de prélèvement

Styrène urinaire

Les prélèvements doivent être réalisés en dehors du lieu de travail, après une douche et un changement de vêtement, pour éviter la contamination des échantillons par l'air ambiant. Les échantillons doivent être prélevés dans des flacons en verre presque complètement remplis et fermés avec un bouchon en polytétrafluoroéthylène. Un volume minimum de 20 mL est requis.

Acide mandélique + acide phénylglyoxylique urinaires

Les prélèvements seront réalisés dans des flacons en verre, plastique ou polyéthylène (100 mL). L'ACGIH (2007) préconise une acidification des échantillons avec 1% d'acide acétique (v/v). L'IRSST (1995a et b) préconise une acidification suivie d'une extraction à l'acétate d'éthyle. Un volume de prélèvement compris entre 10 et 20 mL est requis.

4.4.3 Conservation, transport des prélèvements

Styrène urinaire

Les échantillons peuvent être conservés pendant 15 jours à 4°C.

Acide mandélique + acide phénylglyoxylique urinaires

Après le prélèvement, les échantillons doivent être conservés sous réfrigération (4 à 6°C) pour prévenir la détérioration de l'échantillon. A cette température l'acide mandélique est stable pendant 14 jours (ACGIH 2007 ; IRSST 1995a et b).

5 Biométrie

Styrène urinaire			
	Méthode 1	Méthode 2	Méthode 3
Technique d'analyse	Chromatographie en phase gazeuse avec injection de l'espace de tête et détection par spectrométrie de masse (HS-GC-MS)	Chromatographie en phase gazeuse avec injection de l'espace de tête - concentrateur d'échantillon purge et trappe et détection par ionisation de flamme (PT-HS-GC-FID)	Chromatographie en phase gazeuse avec injection de l'espace de tête et détection par ionisation de flamme - (HS-GC-FID)
Limite de détection	0,01 µg.L ⁻¹	0,4 µg.L ⁻¹	3 µg.L ⁻¹
Limite de quantification			
Fidélité		< 3%	2,5 %
Justesse	12 à 22%		
Etalon de référence			
Programme de contrôle qualité inter-laboratoire		Non	
Traitement de l'échantillon / durée	SPE rapide	Purge et trappe	non
Volume d'échantillon	4 à 10 ml	5 ml	200 µl à 5ml
Références	Pezzagno et al, 1985 Wang et al, 2007 Prado et al, 2006	Periago et al., 1996 Prieto et al, 2002	Ghittori S et al, 1987 Ong CN et al, 1994 INRS, 2010

Acide Mandélique et Acide Phénylglyoxylique Urinaires			
	Méthode 1	Méthode 2	Méthode 3
Technique d'analyse	Chromatographie liquide à haute performance avec détecteur ultraviolet (+/- à barrettes de diodes) (HPLC-UV ou HPLC-UV/DAD)	Chromatographie en phase gazeuse avec détection par ionisation de flamme (GC-FID)	Chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse en tandem (GC-MS/MS)
Limite détection	0,5 à 10 mg.L ⁻¹ (acide phénylglyoxylique) 5 à 25 mg.L ⁻¹ (acide mandélique)	10 mg.L ⁻¹ pour chaque acide	0,16 mg.L ⁻¹ (acide phénylglyoxylique) 0,115 mg.L ⁻¹ (acide mandélique)
Limite de quantification	20 mg.L ⁻¹ (acide phénylglyoxylique) 50 mg.L ⁻¹ (acide mandélique)	20 mg.L ⁻¹ (acide phénylglyoxylique) 30 mg.L ⁻¹ (acide mandélique)	NR
Fidélité	CV 7 à 10 %	CV = 0,94% (acide phénylglyoxylique) CV = 1,03% (acide mandélique)	NR
Justesse	Biais < 5% à 20 %	NR	
Etalon de référence		Solution commerciale	
Programme de contrôle qualité inter-laboratoire		G-EQUAS	
Traitement de l'échantillon / durée	Simple dilution et centrifugation Extraction liquide/liquide	Extraction liquide/liquide puis dérivatisation	Dérivatisation puis microextraction en phase solide par immersion directe de la fibre dans l'extrait (SPME)
Volume d'échantillon	200 µl à 1 ml	1 à 5 ml	2 ml
Références	Ogata et al., 1988 Sperlingova et al., 2004 Chua et al., 1993 Papaleo et al., 2011	Flek et al., 1980 Lanchote et al., 1994	Pacenti et al., 2008
	Méthode 4	Méthode 5	
Technique d'analyse	Chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse (GC-MS)	Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS)	
Limite détection	2 mg.L ⁻¹ (acide phénylglyoxylique) 1 mg.L ⁻¹ (acide mandélique)	0,01 mg.L ⁻¹	
Limite de quantification	40 mg.L ⁻¹ (acide phénylglyoxylique) 10 mg.L ⁻¹ (acide mandélique)	NR	
Fidélité	NR	NR	
Justesse	< 6% (acide phénylglyoxylique) < 19% (acide mandélique)	< 8%	
Etalon de référence		Solution commerciale	
Programme de contrôle qualité inter-laboratoire		G-EQUAS	
Traitement de l'échantillon / durée	Extraction en phase solide (SPE) puis dérivatisation	Simple dilution au 1/10 et filtration Etalon interne deutéré (d6-acide mandélique et d5- acide phénylglyoxylique)	
Volume d'échantillon	10 ml	20 µl	
Références	Szucs et al., 2002	Manini et al., 2002 Marchese et al., 2004	

6 Construction des VLB et choix des valeurs biologiques de référence

Le rapport d'expertise collective du CES VLEP sur le styrène (Anses, 2010) propose une valeur limite d'exposition professionnelle au styrène de 100 mg.m^{-3} qui devrait protéger adéquatement une majorité de salariés contre les effets délétères potentiels du styrène sur le système nerveux central, en particulier sur la vision des couleurs que ce composé est susceptible de produire.

6.1 Valeurs limites biologiques et valeurs biologiques de référence retenues

Les effets observés chez l'homme suite à l'exposition chronique au styrène concernent des organes cibles très variés. Les effets les plus fréquemment décrits sont de type neurotoxique, mais des effets respiratoires, cardiovasculaires, digestifs, hématologiques, hépatiques, rénaux, endocriniens et immunologiques ont également été rapportés (Anses, 2010). Plusieurs des tests indiquant des manifestations neurotoxiques concernent des dyschromatopsies, des allongements de temps de réaction, une moindre performance à des tests de mémoire ou de dextérité, des céphalées, des modifications de l'humeur et une atteinte de l'ouïe. L'atteinte du système nerveux périphérique a été largement étudiée mais les résultats des différentes études signalant une diminution de la vitesse de conduction sont assez discordants. Lorsqu'ils sont signalés, les effets neurotoxiques dus à l'exposition au styrène sont réversibles, du moins en partie, après arrêt de l'exposition. Les études de terrain n'ont pas permis d'établir une fonction dose-réponse entre les concentrations urinaires de styrène et/ou de la somme des acides mandélique et phénylglyoxylique et les effets sanitaires (altération de l'audition et dyschromatopsie).

Il est plus pertinent de prendre en compte les études mettant en relation les concentrations atmosphériques de styrène aux concentrations urinaires des différents IBE retenus et de construire des VLB basées sur une exposition à la VLEP-8h.

Synthèse des études mettant en relation les concentrations atmosphériques de styrène et les concentrations urinaires des IBE retenus

n	Styr atmo (mg.m ⁻³)	Styru (FP) (µg.L ⁻¹)		acide mandélique + acide phénylglyoxylique (FP)		Références
	Moyenne a : arithmétique g : géométrique m : médiane	Moyenne a : arithmétique g : géométrique m : médiane	Pour VLEP-8h (100 mg.m ⁻³)	Moyenne a : arithmétique g : géométrique m : médiane	Pour VLEP-8h (100 mg.m ⁻³)	
34	70,5 (a)	5,7 (a) 5,2 (m)	7	147,1 (a) mg.g ⁻¹ cr	193 mg.g ⁻¹ cr	Prieto et al., 2002 ^a
22	113 (a) [40-230]	25,6 (a)	22	754 (a) mg.g ⁻¹ cr		Maestri et al., 1999 ^{b*}
34	46 (g) [0,9-140]	26,3 (g)	45	187,3 (g) mg.g ⁻¹ cr	557 mg.L ⁻¹	Ong et al., et al., 1994 ^{b*}
69	109 (m)	51 (m)	48			Imbriani et al. 1986 ^a
65	[8-770]	63 (g)	42	1 980 (g) mg.L ⁻¹	1185 mg.L ⁻¹	Gobba et al., 1993 ^{b*}
22	361 (a)			1135 (a) mg.L ⁻¹	474 mg.L ⁻¹	Apostoli et al., 1983 ^{c**}
20	[22-522]			mg.g ⁻¹ cr Lun : 591,4 (a) Jeu : 764,3 (a)	346 mg.g ⁻¹ cr 400 mg.g ⁻¹ cr	De Rosa et al., 1993 ^{b*}
20	93,6 (a)			485,6 (a) mg.g ⁻¹ cr	520 mg.g ⁻¹ cr	De Rosa et al., 1988 ^{b*}

^a Prélèvements atmosphériques sur 4 heures

^b Prélèvements atmosphériques sur 8 heures

^c prélèvements atmosphériques sur 4 fois 15 minutes

* Prélèvements passifs

** Prélèvements actifs

Les données du tableau de synthèse sont commentées ci-dessous pour chacun des IBE retenus.

6.1.1 Styrène urinaire

Les concentrations urinaires de styrène en fin d'exposition (5 études de terrain) calculées à partir des équations de régression pour une exposition à la VLEP-8h sont comprises entre 7 et 48 µg.L⁻¹.

Plus précisément, trois études donnent des résultats de l'ordre de 40 à 50 µg.L⁻¹ à savoir : 48 (Imbriani et al., 1986), 45 (Ong et al., 1994) et 44 (Gobba et al., 1993) µg.L⁻¹, alors que les deux autres études conduisent à des valeurs de 7 (Prieto et al., 2002) et 22 (Maestri et al., 1999) µg.L⁻¹ pour les concentrations de styrène en fin de travail.

Les études de Prieto et Imbriani ne sont pas retenues pour calculer une concentration de styrène urinaire dans la mesure où les auteurs indiquent dans cette étude des expositions de 4 heures. Ainsi, la corrélation rapportée et l'équation de régression ne sont estimées que pour des expositions de 4 heures. De plus, Prieto et al. présentent des valeurs de concentrations de styrène dans les urines du lendemain matin comparables à celles de fin de poste de la veille à savoir : une moyenne arithmétique de 2,7 µg.L⁻¹ pour un domaine allant de 1 à 6,3 µg.L⁻¹. Il est possible que le niveau de styrène dans l'urine de fin de poste ne corresponde pas réellement à une fin d'exposition.

Actuellement, les informations fournies par l'INRS dans Biotox (INRS, 2010) sont les suivantes : « pour une exposition de l'ordre de 50 ppm, les concentrations urinaires de styrène en fin de poste de travail seraient de 85 µg.g⁻¹ créatinine ce qui correspond bien pour une exposition à 23 ppm à la valeur de 40 g.L⁻¹ extrapolée à partir des études précitées.

La moyenne des concentrations calculées pour une exposition à la VLEP-8h (100 mg.m⁻³), en retenant les études de Maestri et al. (1999), Ong et al. (1994) et Gobba et al. (1993b) est d'environ 40 µg.L⁻¹.

Une concentration urinaire de styrène de 40 µg.L⁻¹ dans des échantillons de fin de poste peut être retenue pour la construction d'une VLB basée sur une exposition à la VLEP-8h.

6.1.2 Acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires

Le dosage combiné des deux métabolites est à privilégier car cette sommation permet de s'affranchir des problèmes d'instabilité de l'acide phénylglyoxylique dans l'urine qui se transforme en acide mandélique. Ainsi l'ensemble des deux acides reste stable dans les urines après prélèvement.

Parmi les études de terrain présentées dans le tableau précédant, les valeurs extrapolées à partir des équations de régression rapportées (7 valeurs) conduisent à des concentrations urinaires de la somme des acides mandélique et phénylglyoxylique en fin de poste, assez hétérogènes (193 à 520 mg.g⁻¹ cr et 474 à 1185 mg.L⁻¹) créatinine pour une exposition à la VLEP-8h de 100 mg.m⁻³. Comme pour le styrène urinaire, les études présentant des régressions calculées pour une exposition mesurée pendant 4 heures ou 15 minutes (Apostoli et al., 1983 et Prieto et al., 2002) n'ont pas été retenues. La moyenne des concentrations urinaires d'acide mandélique+acide phénylglyoxylique calculée à partir des autres études est proche de 500 mg.g⁻¹ de créatinine. Or, cette concentration n'est pas vraiment cohérente avec les concentrations calculées pour l'acide mandélique et l'acide phénylglyoxylique séparément à partir des équations de régression retrouvées dans la littérature. Les moyennes des concentrations calculées pour une exposition à la VLEP-8h, en excluant les études d'Apostoli et al. (1983) et de Prieto et al. (2002) sont de 448 µg.g⁻¹ de créatinine pour l'acide mandélique et 163 µg.g⁻¹ de créatinine pour l'acide phénylglyoxylique (pour des prélèvements en fin de poste). Il a été identifié que, les valeurs journalières rapportées par De Rosa en 1993 paraissent anormalement basses par rapport aux valeurs moyennes publiées par le même auteur en 1988 sur le même groupe de travailleurs. Les concentrations calculées à partir des équations renseignées dans la publication conduisent, pour une exposition à 100 mg.m⁻³, à des concentrations d'acide mandélique+acide phénylglyoxylique systématiquement inférieures (FP et DP) aux concentrations calculées à partir d'autres études. Ainsi, seules les valeurs moyennes de 1988 seront retenues, les valeurs de l'étude de 1993 ne seront pas retenues pour le calcul de la VLB.

Sur la base des données des études non exclues et en normalisant les concentrations rapportées à la créatinine à la valeur de 1,4 g de créatinine.L⁻¹, la concentration moyenne correspondant à la somme des acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires en fin de poste est égale à 588 mg.g⁻¹ de créatinine (846 mg.g⁻¹ de créatinine pour Gobba et al., 1993b) et 398 mg.g⁻¹ de créatinine pour Ong et al., 1994). La concentration urinaire de la somme des acides mandélique et phénylglyoxylique de 600 mg.g⁻¹ de créatinine dans des échantillons de fin de poste peut être retenue pour la construction d'une VLB basée sur une exposition à la VLEP-8h de 100 mg.m⁻³.

A titre de comparaison, la valeur proposée par l'ACGIH est de 400 mg.g⁻¹ créatinine et celle proposée par le Comité MAK en Allemagne de 600 mg.g⁻¹ créatinine pour des VLEP de styrène à 86 mg.m⁻³.

A défaut de données en France, l'étude menée en Italie, en population générale, peut-être retenue pour définir une valeur biologique de référence pour l'acide mandélique+acide phénylglyoxylique urinaire (Manini et al., 2004). La concentration urinaire d'acide mandélique +acide phénylglyoxylique, correspondant au 97^{ème} percentile de la distribution dans cette étude est de 3,03 mg.g⁻¹ de créatinine, arrondie à 3 mg.g⁻¹ de créatinine.

6.2 Modalités et précautions particulières concernant les prélèvements biologiques pour chaque IBE retenu

Styrène urinaire

Les prélèvements doivent être réalisés, en dehors du lieu de travail, après une douche et un changement de vêtement, pour éviter la contamination des échantillons par l'air ambiant. Les échantillons doivent être prélevés dans des flacons en verre presque complètement remplis et fermés avec un bouchon en polytétrafluoroéthylène. Un volume minimum de 20 mL est requis. Les échantillons peuvent être conservés pendant 15 jours à 4°C.

Il est recommandé de réaliser des prélèvements en fin de poste, indépendamment du jour de la semaine de travail.

Acide mandélique + acide phénylglyoxylique urinaires

Les prélèvements seront réalisés dans des flacons en verre, plastique ou polyéthylène (100 mL). L'ACGIH (2007) préconise une acidification des échantillons avec 1% d'acide acétique (v/v). L'IRSST (1995a et b) préconise une acidification suivie d'une extraction à l'acétate d'éthyle. Un volume de prélèvement compris entre 10 et 20 mL est requis.

Après le prélèvement, les échantillons doivent être conservés sous réfrigération (4 à 6°C). A cette température l'acide mandélique est stable pendant 14 jours (ACGIH 2007 ; IRSST 1995a et b).

Il est recommandé de réaliser les prélèvements urinaires en fin de poste et éventuellement même en fin de semaine de travail.

6.3 Données pouvant affecter l'interprétation des résultats

La consommation d'alcool et la prise de certains médicaments peuvent inhiber le métabolisme et ainsi être source d'interférence dans l'interprétation des résultats de mesures (ACGIH, 2007 ; INRS, 2007).

Une inhibition compétitive des systèmes enzymatiques de métabolisation du styrène se produit lors d'une co-exposition à l'acétone (assez faible), au méthanol, au benzène, au toluène, au xylène, à l'éthylbenzène et au phénylglycol. L'exposition à ces deux dernières substances conduisent d'ailleurs aussi à l'excrétion dans les urines d'acides mandélique et phénylglyoxylique.

Pour un même niveau d'exposition, en relation avec la demi-vie de l'acide mandélique dans l'urine qui ne permet pas une élimination complète en 24 heures, l'excrétion d'acide mandélique et par conséquent l'excrétion de la somme des acides mandélique et phénylglyoxylique sont plus élevées à la fin qu'au début de la semaine de travail.

7 Conclusions de l'expertise collective

Les valeurs limites biologiques (VLB) proposées pour le suivi de l'exposition au styrène sont :

Styrène urinaire en fin de poste

VLB basée sur une exposition à la VLEP-8h (100 mg.m^{-3}) : **$40 \mu\text{g.L}^{-1}$**

VLB basée sur un effet sanitaire : Non

Valeurs biologiques de référence : NR

Somme des acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires en fin de poste

VLB basée sur une exposition à la VLEP-8h (100 mg.m^{-3}) : **600 mg.g^{-1} créatinine**

VLB basée sur un effet sanitaire : Non

Valeurs biologiques de référence : 3 mg.g^{-1} créatinine

8 Références bibliographiques

- Afsset. Evaluation des effets sur la santé et des méthodes de mesure des niveaux d'exposition sur le lieu de travail pour le styrène. 2009. 81 p.
- Agency for toxic substances and disease registry (ATSDR) U.S. Department of Health and Human Services (2007). Draft Toxicological Profile for Styrene. Atlanta.
- American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) (2007). Styrene BEI-2003. Documentation of the TLVs and BEIs with Other Worldwide Occupational Exposure Values, CD-ROM. Cincinnati, OH, ACGIH Worldwide.
- Agence nationale de sécurité sanitaire (Anses) (2010). Styrène - Evaluation des effets sur la santé et des méthodes de mesure des niveaux d'exposition sur le lieu de travail.
- Apostoli, P., F. Bruignone, et al. (1983). Occupational styrene exposure: Environmental and biological monitoring. *Am J Ind Med.* 4: 741-754.
- Aringer, L., A. Lof, et al. (1991). The applicability of the measurement of urinary thioethers. A study of humans exposed to styrene during diet standardization. *Int Arch Occup Environ Health.* 63(5): 341-6.
- Bergamaschi, E, A. Smargiassi et al. (1997). Peripheral markers of catecholaminergic dysfunction and symptoms of neurotoxicity among styrene-exposed workers. *Int Arch Occup Environ Health.* 69(3):209-14.
- Bergert, K. D. et K. Nestler. (1991). Solvent uptake in relation to physical activity. *Sci Total Environ.* 101(1-2): 111-9.
- Berode, M., P. O. Droz, et al. (1985). Human exposure to styrene: VI. Percutaneous absorption in human volunteers. *Int Arch Occup Environ Health.* 55: 331-336.
- Berode, M., P. O. Droz, et al. (1986). Effect of Alcohol on the Kinetics of Styrene and Its Metabolites in Volunteers and in Workers. *App Ind Hyg.* 1(1): 25-28.
- Brenner, D. D., A. M. Jeffrey, et al. (1991). Biomarkers in styrene-exposed boatbuilders. *Mutat Res* 261(3): 225-36.
- Bruignone, F., L. Perbellini, et al. (1993). Blood styrene concentrations in a "normal" population and in exposed workers 16 hours after the end of the workshift. *Int Arch Occup Environ Health.* 65(2): 125-30.
- Calabrese, G., A. Martini, et al. (1996). Otoneurological study in workers exposed to styrene in the fiberglass industry. *International Arch Occup and Environ Health.* 68(4): 219-223.
- Campagna, D, D. Mergler et al. (1995) Visual dysfunction among styrene exposed workers. *Scand J Work Environ Health.* 21(5): 382-390.
- Cerny, S., J. Mraz, et al. (1990). Effect of ethanol on the urinary excretion of mandelic and phenylglyoxylic acids after human exposure to styrene. *Int Arch Occup Environ Health.* 62(3): 243-7.
- Chua, S. C., B. L. Lee, et al. (1993). Determination of mandelic acid and phenylglyoxylic acid in the urine and its use in monitoring of styrene exposure. *J Anal Toxicol.* 17(3): 129-32.
- Cohen J. T., G. Carlson, et al. (2002). A comprehensive evaluation of the potential health risks associated with occupational and environmental exposure to styrene. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 5(1-2): 1-265.
- Darrall, K. G., F. A. Figgins et al. (1988). Determination of benzene and associated volatile compounds in mainstream cigarette smoke. *Analyst.* 123(5): 1095-101.
- De Palma, G., P. Manini, et al. (2001). Polymorphism of xenobiotic-metabolizing enzymes and excretion of styrene-specific mercapturic acids. *Chem Res Toxicol.* 14(10): 1393-400.
- De Rooij, B. M., J. N. Commandeur, et al. (1998). Mercapturic acids as biomarkers of exposure to electrophilic chemicals: Applications to environmental and industrial chemicals. *Biomarkers.* 3(4-5): 239-303.
- De Rosa, E., G. B. Bartolucci, et al. (1988). Environmental and biological monitoring of exposure to toluene, styrene, and n-hexane. *App Ind Hyg.* 3: 332-337.
- De Rosa, E., M. Cellini, et al. (1993). Biological monitoring of workers exposed to styrene and acetone. *Int Arch Occup Environ Health.* 65 suppl.: S107-S110.

- Dutkiewicz, T. et H. Tyras. (1968). Skin absorption of toluene, styrene, and xylene by man. *Br J Ind Med*. 25: 243.
- Eitaki, Y., T. Kawai, et al. (2008). Stability in urine of authentic phenylglyoxylic and mandelic acids as urinary markers of occupational exposure to styrene. *J Occup Health* 50 (3): 221-228
- Engström K., K. Husman, et al. (1978). Evaluation of occupational exposure to xylene by blood, exhaled air and urine analysis. *Scand J Work Environ Health*. 4(2): 114-21.
- Engstrom, K. (1984). Styrene. *Biological Monitoring and Surveillance of Workers Exposed to Chemicals*. A. Aitio, V. Riihimaki et H. Vainio. Washington, D.C, Hemisphere Publishing Co: 99-110.
- Finnish Institute of Occupational Health (FIOH). (2007). "Biomonitoring of exposure to chemicals. Guideline for specimen collection 2008". Retrieved 7 janvier 2009, from http://www.ttl.fi/internet/english/search/lien_BMGuideline20080101.pdf.
- Flek J. et V. Sedivec. (1980). Simultaneous gas chromatographic determination of urinary mandelic and phenylglyoxylic acids using diazomethane derivatization. *Int Arch Occup Environ Health*. 45(2): 181-8.
- Fustinoni S., P. Manini et al. (2010) Assessing variability and comparing short-term biomarkers of styrene exposure using a repeated measurements approach. *Toxicol Lett*. 192(1):40-4.
- Ghittori S., L. Maestri, et al. (1997). Urinary Excretion of Specific Mercapturic Acids in Workers Exposed to Styrene. *Am J Ind Med*. 31(5): 636-644.
- Ghittori S., M.L. Fiorentino, M. Imbriani. (1987). Use of gas chromatography with flame ionization (GC-FID) in the measurement of solvents in the urine. *G Ital Med Lav*. 9(1): 21-4.
- Gobba, F. et A. Cavalleri. (1993a). Kinetics of urinary excretion and effects on colour vision after exposure to styrene. *IARC Sci Publ*. 127: 79-88.
- Gobba, F., C. Galassi, et al. (1993b). Urinary styrene in the biological monitoring of styrene exposure. *Scand J Work Environ Health*. 19(3): 175-82.
- Gobba, F., S. Ghittori, A. Cavalleri. (1995). Biomonitoring of low levels of exposure to styrene. *Am J Ind Med*. 28(1): 143-9.
- Godderis, L., M. De Boeck, et al. (2004). Influence of genetic polymorphisms on biomarkers of exposure and genotoxic effects in styrene-exposed workers. *Environ Mol Mutagen*. 44(4): 293-303.
- Gong, Y. Y., R. Kishi, et al. (2002). Relation between colour vision loss and occupational styrene exposure level. *Occup Environ Med*. 59(12): 824-9.
- Guillemin, M. et D. Bauer (1976). Human exposure to styrene. II Quantitative and specific gaschromatographic analysis of urinary mandelic and phenylglyoxilic acids as index of styrene exposure. *Int Arch Occup Environ Health*. 37(1): 57-64.
- Guillemin, M. et M. Berode (1988). Biological monitoring of styrene : a review. *Am Ind Hyg Assoc J*. 49(10): 497-505.
- Hoffmann, J., A. Ihrig, et al. (2006). Field study to explore possible effects of styrene on auditory function in exposed workers. *Ind Health* 44(2): 283-286.
- Imbriani, M., S. Ghittori, et al. (1986). Toluene and Styrene in Urine as Biological Exposure Indices. *App Ind Hyg*. 1(4): 172-176.
- Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST). (1995a). Détermination de l'acide mandélique urinaire. 106-1. Notes et rapports scientifiques et techniques. Méthode analytique. Montréal: 1-9.
- Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST). (1995b). Détermination de l'acide phénylgyoxylique urinaire. 108-1. Notes et rapports scientifiques et techniques. Méthode analytique. Montréal: 1-9.
- Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST). (2004). Guide de surveillance biologique. Prélèvement et interprétation des résultats. Guide technique T-03. Montréal: 1-93.
- Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques (INERIS). (2008). "Styrène Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques". Retrieved 7 janvier 2009.

- Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS). (2006). «Styrène». Fiche toxicologique N° 2. Edition 2006.
- Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS) (2010). Biotox. Base de données sur Internet. <http://www.inrs.fr/accueil/produits/bdd/biotox.html>
- International Agency for Research on Cancer (IARC). (1994). Styrene. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans: Some industrial chemicals volume 60.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). (2002). Styrene. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risks of chemical to humans, IARC. 82: 437-550.
- Kawai, T., T. Yasugi, et al. (1992). Comparative evaluation of urinalysis and blood analysis as means of detecting exposure to organic solvents at low concentrations. *Int Arch Occup Environ Health*. 64(4): 223-34.
- Kivistö, H., K. Pekari, et al. (1993). Analysis and stability of phenylglyoxylic and mandelic acids in the urine of styrene-exposed people. *Int Arch Occup Environ Health*. 64(6): 399-403.
- Korn, M., R. Wodarz, et al. (1985). Stereometabolism of styrene in man: gas chromatographic determination of phenylethyleneglycol enantiomers and phenylethanol isomers in the urine of occupationally-exposed persons. *Arch Toxicol*. 58(2): 110-4.
- Lanchote, V. L., A. C. dos Santos, et al. (1994). An improved method for the simultaneous determination of mandelic and phenylglyoxylic acids by gas chromatography. *J Anal Toxicol*. 18(3): 143-6.
- Lauwerys, R. R., V. Haufroid, et al. (2007). Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. Paris, Elsevier Masson.
- Lawton, B. W., J. Hoffmann, et al. (2006). The ototoxicity of styrene: a review of occupational investigations. *Int Arch Occup Environ Health*. 79(2): 93-102.
- Löf, A., E. Lundgren, et al. (1986a). Kinetics of styrene in workers from a plastics industry after controlled exposure: a comparison with subjects not previously exposed. *Br J Ind Med*. 43(8): 537-43.
- Löf, A., E. Lundgren, et al. (1986b). Biological monitoring of styrene metabolites in blood. *Scand J Work Environ Health*. 12: 70-74.
- Maestri, L., S. Ghittori, et al. (1997a). Determination of specific mercapturic acids as an index of exposure to environmental benzene, toluene, and styrene. *Ind Health*. 35(4): 489-501.
- Maestri, L., M. Imbriani, et al. (1997b). Excretion of N-acetyl-S-(1-phenyl-2-hydroxyethyl)-cysteine and N-acetyl-S-(2-phenyl-2-hydroxyethyl)-cysteine in workers exposed to styrene. *Science of The Total Environment*. 199(1-2): 13-22.
- Maestri, L., I. J. Mestad, et al. (1999). [Mercapturates and biologic monitoring: styrene]. *G Ital Med Lav Ergon*. 21(4): 334-40.
- Manini, P., L. Buzio, et al. (2003). Assessment of biotransformation of the arene moiety of styrene in volunteers and occupationally exposed workers. *Toxicol Appl Pharmacol*. 189(3): 160-9.
- Manini, P., G. De Palma, et al. (2004). Determination of urinary styrene metabolites in the general Italian population by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Int Arch Occup Environ Health*. 77(6): 433-6.
- Marchese, S., R. Curini, et al. (2004). Simultaneous determination of the urinary metabolites of benzene, toluene, xylene and styrene using high-performance liquid chromatography/hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 18(3): 265-72.
- Mascagni, P, C. Formenti (2007). Hearing function and solvent exposure: study of a worker population exposed to styrene. *G Ital Med Lav Ergon*. 29(3 Suppl): 277-9.
- Möller, C., L. Odkvist, et al. (1990). Otoneurological findings in workers exposed to styrene. *Scand J Work Environ Health*. 16(3): 189-194.
- Morata, T. C., A. C. Johnson, et al. (2002). Audiometric findings in workers exposed to low levels of styrene and noise. *J Occup Environ Med*. 44(9): 806-14.
- Morioka, I, M.Kuroda et al. (1999). Evaluation of organic solvent ototoxicity by the upper limit of hearing. *Arch Environ Health*. 54(5): 341-6.

- Muijser, H, E.M. Hoogendijk et al. (1988). The effects of occupational exposure to styrene on high-frequency hearing thresholds. *Toxicology*. 49: 331-40.
- Mutti, A, A. Mazzucchi A et al. (1984). Exposure-effect and exposure-response relationships between occupational exposure to styrene and neuropsychological functions. *Am J Ind Med*. 5(4): 275-86.
- Ogata, M., T. Taguchi (1988). Simultaneous determination of urinary creatinine and metabolites of toluene, xylene, styrene, ethylbenzene and phenol by automated high performance liquid chromatography. *Int Arch Occup Environ Health*. 61(1-2): 131-40.
- Ong, C. N., C. Y. Shi, et al. (1994). Biological monitoring of exposure to low concentrations of styrene. *Am J Ind Med*. 25(5): 719-30.
- Pacenti M., S. Dugheri, et al. (2008). Determination of organic acids in urine by solid-phase microextraction and gas chromatography-ion trap tandem mass spectrometry previous 'in sample' derivatization with trimethylxonium tetrafluoroborate. *Biomed Chromatogr*. 22(10): 1155-63.
- Papaleo, B., L. Caporossi, et al. (2011). Exposure to styrene in fiberglass-reinforced plastic manufacture: still a problem. *J Occup Environ Med*. 53(11): 1273-8.
- Periago, J. F., C. Prado, et al. (1996). Purge-and-trap method for the determination of styrene in urine. *J Chromatogr A*. 719(1): 53-8.
- Pezzagno, G., S. Ghittori, et al. (1985). Urinary elimination of styrene in experimental and occupational exposure. *Scand J Work Environ Health*. 11(5): 371-9.
- Prado C., P. Marin, et al. (2006). SPE-GC-MS for the sampling and determination of unmetabolized styrene in urine. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 830(1): 18-24.
- Prieto, M. J., D. Marhuenda, et al. (2002). Analysis of styrene and its metabolites in blood and urine of workers exposed to both styrene and acetone. *J Anal Toxicol*. 26(1): 23-8.
- Riihimaki, V. et P. Pfaffli. (1978). Percutaneous absorption of solvent vapors in man. *Scand J Work Environ Health*. 4: 73-85.
- Sass-Kortsak, A.M., P.N. Corey, et al. (1995). An investigation of the association between exposure to styrene and hearing loss. *Ann Epidemiol*. 5(1): 15-24.
- Seeber, A, T. Bruckner et al. (2009). Occupational styrene exposure, colour vision and contrast sensitivity: a cohort study with repeated measurements. *Int Arch Occup Environ Health*. 82(6): 757-70.
- Sliwiska-Kowalska, M., et al. (2003) Ototoxic effects of occupational exposure to styrene and co-exposure to styrene and noise. *J Occup Environ Med*. 45(1): 15-24.
- Sliwiska-Kowalska, M., et al. (2005). Exacerbation of noise-induced hearing loss by coexposure to workplace chemicals. *Environ Toxicol Pharmacol*. 19: 547-553.
- Sperlingova I., L. Dabrowska, et al. (2004). A rapid HPLC method for the determination of carboxylic acids in human urine using a monolithic column. *Anal Bioanal Chem*. 378(2): 536-43.
- Sumner, S. J. et T. R. Fennell. (1994). Review of the metabolic fate of styrene. *Critical Reviews in Toxicology* 24(suppl. 1): S11-S33.
- Szucs, S., L. Toth, et al. (2002). Simultaneous determination of styrene, toluene, and xylene metabolites in urine by gas chromatography/mass spectrometry. *Arch Toxicol*. 76(10): 560-9.
- Toppila, E., P. Forsman, et al. (2006). Effect of styrene on postural stability among reinforced plastic boat plant workers in Finland. *J Occup Environ Med*. 48(2): 175-80.
- Triebig, G., T. Stark, et al. (2001). Intervention study on acquired color vision deficiencies in styrene-exposed workers. *J Occup Environ Med*. 43(5): 494-500.
- Triebig, G, T. Bruckner et al. (2009) Occupational styrene exposure and hearing loss: a cohort study with repeated measurements. *Int Arch Occup Environ Health*. 82(4): 463-80.
- Truchon, G., M. Brochu, et al. (2009). Effect of physical exertion on the biological monitoring of exposure to various solvents following exposure by inhalation in human volunteers: III. Styrene. *J Occup Environ Hyg*. 6(8): 460-467.
- Vodicka, P., M. Koskinen, et al. (2006). Styrene metabolism, genotoxicity, and potential carcinogenicity. *Drug Metab Rev*. 38(4): 805-53.

- Vyskocil, A., M. Gérin, et al. (1997a). Relationship between styrene exposure and health effects: a critical review of the literature. *Travail et Santé*. 13(2): S10-S14.
- Vyskocil, A., C. Viau, et al. (1997b). Relationship between styrene exposure and health effects: a critical review of the literature. Montreal, Institut de recherche en santé et en sécurité du travail du Québec: 1-202.
- Vyskocil, A., T. Leroux, et al. (2011). Substances chimiques et effet sur l'audition: Interactions avec le bruit. Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) Rapport R-685 Styrène (monomère) 40-41.
- Wieczorek, H. (1985). Evaluation of low exposure to styrene. II. Dermal absorption of styrene vapors in humans under experimental conditions. *Int Arch Occup Environ Health*. 57: 71-5.
- Wigaeus, E., A. Löf, et al. (1983). Exposure to styrene: Uptake, distribution, metabolism and elimination in man. *Scand J Work Environ Health*. 9: 479-488.
- Wongvijitsuk, S, P.Navasumrit, et al. (2011). Low level occupational exposure to styrene: its effects on DNA damage and DNA repair. *Int J Hyg Environ Health*. 214(2): 127-37.
- Wang, B. L., T. Takigawa, et al. (2007). Unmetabolized VOCs in urine as biomarkers of low level exposure in indoor environments. *J Occup Health*. 49(2): 104-10.
- Wilson, H. K., S. M. Robertson, et al. (1983). Effect of Alcohol on the Kinetics of Mandelic Acid Excretion in Volunteers Exposed to Styrene Vapour. *Br. J. Ind. Med*. 40: 75.

La synthèse et les conclusions de l'expertise collective ont été adoptées par le CES « Expertise en vue de la fixation de valeurs limites à des agents chimiques en milieu professionnel » le 18 mars 2014.

Au nom des experts du CES

Le président du CES

ANNEXES

Annexe 1 : Données disponibles pour acides mandélique urinaire et phénylglyoxylique urinaire pris séparément

Données bibliographiques sur la corrélation entre les niveaux biologiques et les effets sur la santé.

Acide mandélique urinaire

Une étude de Godderis et al. (2004) porte sur 44 travailleurs de l'industrie du plastique renforcé avec une durée moyenne de travail égale à 14 ans (plus ou moins 10 ans). La moyenne des concentrations urinaires d'acide mandélique est égale à 201,6 mg.g⁻¹ de créatinine (\pm 148,32), ce qui correspond selon les auteurs à une concentration atmosphérique moyenne de 40,5 mg.m⁻³ (\pm 40,9) (soit 9,5 ppm \pm 9,6 dans l'étude). Selon les auteurs, l'inhalation à ces faibles concentrations de styrène pourrait occasionner des atteintes toxiques avec des lésions à l'ADN chez certains sujets (polymorphisme génétique).

Deux publications (l'une de Morata, l'autre de Calabrese) portant sur l'étude de la toxicité du styrène sur l'audition présentent des résultats contradictoires. L'étude de Morata et al. (2002) porte sur 313 travailleurs répartis en 4 groupes de travailleurs : un groupe (n=81) non-exposé ; un groupe (n=78) exposé au bruit ; un groupe (n=65) exposé au styrène et un groupe (n=89) exposé au bruit et au styrène. La durée moyenne de travail est comparable pour chaque groupe et varie de 1 à 39 ans pour une moyenne générale d'environ 15 ans. La moyenne des concentrations urinaires d'acide mandélique pour les groupes exposés au styrène est égale à 137 mg.g⁻¹ de créatinine (0,9 mmol.g⁻¹ de créatinine dans l'étude). Les auteurs rapportent une diminution significative de l'audition dans les fréquences de 2, 3, 4, et 6 kHz pour les deux groupes de travailleurs exposés au styrène. Cette atteinte dépend de l'âge, du niveau sonore et de la concentration d'acide mandélique urinaire. Une analyse logistique de régression multiple indique que le risque de perte d'audition augmente de 1,19 fois pour chaque incrément d'une année d'âge, de 1,18 pour chaque incrément de 1dB et 2,44 fois pour chaque augmentation de la concentration d'acide mandélique dans les urines de 1 mmol.g⁻¹ de créatinine (152 mg.g⁻¹ de créatinine).

L'étude de Calabrese et al. (1996) porte sur 20 travailleurs de l'industrie de la fibre de verre (co-exposition à l'acétone) avec une durée moyenne de travail égale à 7 ans (entre 2 et 23 ans). Les prélèvements urinaires sont effectués en fin de poste et en début de poste le lendemain et des prélèvements atmosphériques sont réalisés individuellement. Les concentrations sont comprises entre 14 et 416 mg.m⁻³ pour le styrène et entre 70 et 277 mg.m⁻³ pour l'acétone. La moyenne des concentrations atmosphériques de styrène est égale à 156,2 mg.m⁻³ (\pm 86,6). La concentration moyenne d'acide mandélique en fin de poste égale à 189,7 mg.g⁻¹ de créatinine (\pm 140,5). Les auteurs rapportent que l'exposition au styrène à ces niveaux relativement bas à modérés ne semble pas affecter l'audition. Malgré l'absence de signes ou symptômes cliniques, les auteurs rappellent que c'est le système vestibulaire qui est considéré comme particulièrement sensible aux effets toxiques du styrène.

Il est cependant à noter que l'étude de Morata porte sur plus de 300 observations alors que celle de Calabrese ne concerne qu'une vingtaine de travailleurs.

Acide phénylglyoxylique urinaire

Dans l'étude de Calabrese et al. (1996) citée précédemment, la concentration moyenne d'acide phénylglyoxylique en fin de poste est égale à 158,3 mg.g⁻¹ de créatinine (\pm 62,6). La remarque développée pour l'acide mandélique est d'application pour ce métabolite, à savoir que des pertes d'audition n'apparaissent pas à ces niveaux relativement bas d'exposition au styrène.

Données bibliographiques sur la corrélation entre l'exposition (atmosphérique et cutanée) et les niveaux biologiques observés

Acide mandélique urinaire

La plupart des études rapportent de bonnes corrélations entre les concentrations atmosphériques de styrène (individuelles) et les concentrations urinaires d'acide mandélique en fin de poste (normalisées sur la créatininurie). Les études de Maestri et al. (1999), de Prieto et al. (2002) et d'Ong et al. (1994) citées précédemment rapportent des coefficients de corrélation (régressions linéaires) respectivement 0,86 ; 0,834 et 0,83. Dans ces études, les concentrations atmosphériques sont renseignées précédemment et les concentrations urinaires d'acide mandélique en fin de poste sont respectivement égales à 580 (moyenne arithmétique) mg.g^{-1} de créatinine ($\pm 337,2$), 89,9 (médiane) mg.g^{-1} de créatinine (15 à 203) et 109,84 (moyenne géométrique) mg.g^{-1} de créatinine (12 à 554). Pour rappel, la corrélation rapportée dans l'étude de Prieto et al. (2002) et l'équation de régression sont calculées pour des suivis d'exposition de 4 heures ce qui n'est pas adapté au calcul d'une concentration d'IBE pour une exposition à la VLEP-8h

Ong et al. (1994) rapportent également des corrélations plus fortes lorsque les concentrations d'acide mandélique sont rapportées à la créatinine avec, pour les concentrations urinaires en fin de poste, un coefficient de corrélation de 0,59 sans normalisation et 0,83 avec normalisation. L'équation rapportée pour les concentrations normalisées présente cependant des erreurs, il n'est donc pas possible de la prendre en compte (Gobba et al. 1995).

L'étude d'Apostoli et al. (1983) sur 22 travailleurs de l'industrie du plastique renforcé à la fibre de verre rapporte un coefficient de corrélation de 0,6684 entre les concentrations atmosphériques de styrène et les concentrations urinaires d'acide mandélique en fin de poste sans normalisation par la créatininurie. Les concentrations atmosphériques ont été mesurées sur 4 prélèvements de 15 minutes, peu adapté à l'étude des corrélations entre les concentrations d'IBE et les concentrations atmosphériques d'une journée de travail. La moyenne (arithmétique) des concentrations atmosphériques de styrène était égale à 361 mg.m^{-3} et la moyenne (arithmétique) des concentrations urinaires d'acide mandélique était égale à 806 mg.L^{-1} .

L'étude de Gobba et al. (1993b) citée précédemment rapporte une bonne corrélation entre les concentrations atmosphériques et les concentrations d'acide mandélique dans les urines de fin de poste ($r = 0,82$) sans normalisation sur la créatinine. La moyenne des concentrations urinaires d'acide mandélique pour 1 sous-groupe de travailleurs ($n = 65$) est égale à 1479 mg.L^{-1} (36,5 – 6 115).

Une étude de Brenner et al. (1991) rapporte le coefficient de corrélation le plus élevé ($r = 0,902$, concentrations urinaires rapportées à la créatinine) entre les concentrations atmosphériques de styrène et les concentrations urinaires d'acide mandélique en fin de poste. Les moyennes des concentrations atmosphériques (prises individuellement sur 8 heures avec des dosimètres passifs) sont égales à 11,2 (géométrique) et 17,2 (arithmétique) ppm (1 à 44). La moyenne des concentrations urinaires d'acide mandélique en fin de poste est égale à $243,5 \text{ mg.g}^{-1}$ de créatinine. L'équation de régression n'est pas renseignée.

Morata et al. (2002), rapportent une corrélation statistiquement significative mais faible ($r=0,27$, $P<0,01$) entre les concentrations atmosphériques de styrène et les concentrations urinaires d'acide mandélique. Pour les besoins de l'étude, les auteurs ont collecté les urines de 24 heures, le taux d'acide mandélique mesuré inclut donc les niveaux d'avant, de pendant et d'après l'exposition.

Les résultats des mesures de terrain de Campagna permettent d'établir une bonne corrélation entre les concentrations atmosphériques et les concentrations urinaires en acide mandélique ($r = 0,97$) pour l'ensemble des travailleurs ne portant pas de masque de protection respiratoire (Campagna et al., 1995). Cette étude portait sur 81 travailleurs de l'industrie du plastique renforcé à la fibre de verre. La moyenne (arithmétique) des concentrations atmosphériques de styrène était égale à 205 mg.m^{-3} ($\pm 262,35$) et la médiane à $42,99 \text{ mg.m}^{-3}$. La moyenne (arithmétique) des concentrations urinaires d'acide mandélique était égale à 483 mg.g^{-1} de créatinine (± 699) et la médiane à $53,7 \text{ mg.g}^{-1}$ de créatinine.

Les études d'Ong et al. (1994), de Gobba (1993b) et de Prieto et al. (2002) rapportent des corrélations moins fortes entre les concentrations atmosphériques de styrène et les concentrations urinaires d'acide mandélique en début de poste (lendemain d'une exposition) qu'en fin de poste, avec des coefficients de corrélation respectivement de 0,48 (concentrations urinaires rapportées à la créatinine), 0,46 (sans normalisation) et 0,675 (concentrations urinaires rapportées à la créatinine). Dans ces deux dernières études les concentrations urinaires d'acide mandélique en début de poste sont respectivement de 4,6 (moyenne géométrique) mg.g^{-1} créat (1 à 69) et 49,2 (moyenne arithmétique), $401,28 \text{ mg.L}^{-1}$ (moyenne géométrique) et 44,1 (médiane) mg.g^{-1} créat (7 à 103).

Synthèse des concentrations d'acide mandélique urinaire, calculées à partir des données permettant de relier les concentrations biologiques aux concentrations atmosphériques de styrène

Equations reliant l'exposition aux concentrations urinaires d'acide mandélique	[AMu] pour 100 mg.m ⁻³ (VLEP-8h) (23 ppm)	Référence
Etudes de terrain		
[AMu] (mg.g ⁻¹ cr) = 1,114 [STYRa] (mg.m ⁻³) + 25,97 Urine fin demi-journée ; n = 34 ; r = 0,834	137 mg.g ⁻¹ cr	Prieto et al., 2002 ^{a*}
[AMu] (mg.g ⁻¹ cr) = 5,108 [STYRa] (mg.m ⁻³) + 4,653 Urines de FP ; n = 22 ; r = 0,86 ; p < 0,0001	515 mg.g ⁻¹ cr	Maestri et al., 1999 ^{b*}
[AMu] (mg.L ⁻¹) = 16,16 [STYRa] (ppm) + 58,9 Urines de FP ; n = 39 ; r = 0,59	430 mg.L ⁻¹	Ong et al., 1994 ^{b*}
[AMu] (mmol.L ⁻¹) = 0,005 [STYRa] (μmol.m ⁻³) + 0,36 Urines de FP ; n = 65 ; r = 0,84	784 mg.L ⁻¹	Gobba et al., 1993b ^{b*}
[AMu] (mmol.L ⁻¹) = 0,001 [STYRa] (μmol.m ⁻³) + 0,36 Urines de DP (lendemain) ; n = 58 ; r = 0,44	200 mg.L ⁻¹	
[AMu] (mol.mol ⁻¹ cr) = 0,0024 [STYRa] (mg.m ⁻³) + 0,0114 Urines de FP ; n = 68 ; r = 0,97	340 mg.g ⁻¹ cr	Campagna et al., 1995 ^{b*}

^a Prélèvements atmosphériques sur 4 heures

^b Prélèvements atmosphériques sur 8 heures

* Prélèvements passifs

** Prélèvements actifs

Acide phénylglyoxylique urinaire

Les études citées précédemment rapportent également de bonnes corrélations entre les concentrations atmosphériques de styrène (individuelles) et les concentrations urinaires d'acide phénylglyoxylique en fin de poste (corrigées sur la créatininurie). Les études de Maestri et al. (1999), de Prieto et al. (2002) et d'Ong et al. (1994) rapportent des coefficients de corrélation (régressions linéaires) compris entre 0,82 et 0,84. Dans ces études, les concentrations urinaires d'acide phénylglyoxylique en fin de poste sont respectivement égales à 174 (moyenne arithmétique) mg.g⁻¹ de créatinine (\pm 79,1), 104 (moyenne arithmétique) et 89,9 (médiane) mg.g⁻¹ de créatinine (15 à 203) et 109,84 (moyenne géométrique) mg.g⁻¹ de créatinine (12 à 554). Une étude de Brenner et al. (1991) rapporte le coefficient de corrélation le plus élevé (r = 0,902, concentrations urinaires corrigées sur la créatininurie) entre les concentrations atmosphériques de styrène et les concentrations urinaires d'acide mandélique en fin de poste. Les moyennes des concentrations atmosphériques (prises individuellement sur 8 heures avec des dosimètres passifs) est égale à 11,2 (géométrique) et 17,2 (arithmétique) ppm (1 à 44). La moyenne des concentrations urinaires d'acide mandélique en fin de poste est égale à 243,5 mg.g⁻¹ de créatinine.

Les études d'Ong et al. (1994) et de Prieto et al. (2002) rapportent également de fortes corrélations entre les concentrations atmosphériques de styrène et les concentrations urinaires d'acide phénylglyoxylique en début de poste (lendemain d'une exposition), avec des coefficients de corrélations respectivement de 0,60 et 0,81 (concentrations urinaires corrigées sur la créatininurie). Dans ces deux études les concentrations urinaires d'acide phénylglyoxylique en début de poste le lendemain d'une exposition sont respectivement de 29,57 (moyenne géométrique) mg.g⁻¹ (0,5 à 150) et 29,6 (moyenne arithmétique) et 24,6 (médiane) mg.g⁻¹ (3 à 78).

L'étude de Prieto et al. (2002) ne sera pas prise en compte pour les relations entre l'exposition et les concentrations urinaires des métabolites car il s'agit d'étude portant sur la co-exposition du styrène et de l'acétone.

Ong et al. (1994) rapportent également des corrélations plus fortes lorsque les concentrations d'acide phénylglyoxylique sont corrigées sur la créatininurie avec, pour les concentrations urinaires en fin de poste, un coefficient de corrélation de 0,72 sans correction et 0,84 avec correction. De même que l'étude d'Apostoli et al. (1983) qui rapporte un coefficient de corrélation de 0,5321 entre les concentrations atmosphériques de styrène et les concentrations urinaires d'acide mandélique en fin de poste sans normalisation par la créatininurie. Les auteurs indiquent dans cette étude que les expositions n'ont été étudiées que sur 4 prélèvements de 15 minutes. Ainsi, la corrélation rapportée et l'équation de régression ne correspond pas à une corrélation entre les expositions rapportées à 8 heures et les concentrations de biomarqueurs.

L'étude de Gobba et al., (1993a) portant sur 73 travailleurs de l'industrie du plastique (renforcé par de la fibre de verre) rapporte une bonne corrélation entre les concentrations atmosphériques et les concentrations d'acide phénylglyoxylique dans les urines de fin de poste ($r = 0,78$) ou dans les urines du lendemain matin ($r = 0,53$).

Synthèse des concentrations d'acide phénylglyoxylique urinaire, calculées à partir des données permettant de relier les concentrations biologiques aux concentrations atmosphériques de styrène

Equations reliant l'exposition aux concentrations urinaires d'acide phénylglyoxylique	[APu] pour 100 mg.m ⁻³ ou 25 ppm (VLEP-8h)	Référence
Etudes de terrain		
[APu] (mg.g ⁻¹ cr) = 1,147 [STYRa] (mg.m ⁻³) + 45,506 Urines de FP ; n = 22 ; r = 0,82	160 mg.g ⁻¹ cr	(Maestri et al., 1999) ^{b**}
[APu] (mg.g ⁻¹ cr) = 5,12 [STYRa] (ppm) + 16,4 Urines de FP ; n = 39 ; r = 0,84	144 mg.g ⁻¹ cr	(Ong et al., 1994) ^{b**}
[APu] (mg.g ⁻¹ cr) = 2,62 [STYRa] (ppm) - 12,5 Urines de DP (lendemain) ; r = 0,62	52 mg.g ⁻¹ cr	
[APu] (mmol.l ⁻¹) = 0,001 [STYRa] (μmol.m ⁻³) + 0,77 Urines de FP ; n = 64 ; r = 0,78	259 mg.L ⁻¹	(Gobba et al., 1993a) ^{**}
[APu] (mmol.l ⁻¹) = 0,0006 [STYRa] (μmol.m ⁻³) + 1,03 Urines de DP (lendemain) ; r = 0,53	244 mg.L ⁻¹	
[APu] (mg.g ⁻¹ cr) = 0,446 [STYRa] (mg.m ⁻³) + 11,17 Urine fin demi-journée ; n = 34 ; r = 0,841	56 mg.g ⁻¹ cr	(Prieto et al., 2002) ^{a*}

^a Quatre prélèvements atmosphériques sur 15 minutes ou 1 prélèvement sur 4 heures

^b Prélèvements atmosphériques sur 8 heures

* Prélèvements actifs

** Prélèvements passifs

Annexe 2 : Consultation publique

Ce rapport a fait l'objet d'une consultation publique sur le site internet de l'Anses du 10/12/2013 au 10/02/2014.

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

- FIN (Fédération des industries nautiques)
- GPIC (Groupement de la plasturgie industrielle et des composites)
- NIOSH (National institute for occupational safety and health ; USA)

Annexe 3 : Suivi des actualisations du rapport

Date	Version	Page	Description de la modification
Mars 2012	01		Version pour consultation publique
Mars 2014	02		Modifications suite à la consultation : suppression de la ligne indiquant que les acides mandélique et phénylglyoxylique sont bien corrélés aux effets sur la santé ; harmonisation des définitions et du préambule figurant dans les rapports.
Septembre 2014	03		Corrections de la référence de la circulaire française par l'Anses



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