



anses

Valeurs limites d'exposition  
en milieu professionnel

---

# L'oxyde de styrène

## Évaluation des indicateurs biologiques d'exposition

Avis de l'Anses  
Rapport d'expertise collective

Janvier 2022

CONNAÎTRE, ÉVALUER, PROTÉGER



Le directeur général

Maisons-Alfort, le 11 janvier 2022

## **AVIS**

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

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

**Evaluation des indicateurs biologiques d'exposition en vue de la recommandation de  
valeurs limites biologiques et de valeurs biologiques de référence pour l'oxyde de  
styrène pour l'oxyde de styrène (n° CAS 96-09-3) »**

---

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.*

*L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.*

*Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.*

*Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).*

*Ses avis sont publiés sur son site internet.*

---

#### **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 (DGT) afin de mener les travaux d'expertise nécessaires à la fixation de valeurs limites d'exposition professionnelle (VLEP) pour une vingtaine de substances dont l'oxyde de styrène.

La France ne dispose à ce jour d'aucune VLEP pour l'oxyde de styrène. Ainsi la DGT a demandé à l'agence de proposer des valeurs basées sur des considérations sanitaires.

Suite à l'analyse des données de la littérature et face à la difficulté de recommander des valeurs atmosphériques, il a été jugé plus pertinent de démarrer les travaux par l'évaluation des indicateurs biologiques de l'oxyde de styrène et d'établir le cas échéant des valeurs biologiques pour une surveillance des expositions à l'oxyde de styrène en milieu professionnel.

## 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 relève du domaine de compétences du comité d'experts spécialisé (CES) « Valeurs Sanitaires de Référence » (VSR). L'Anses a mandaté le groupe de travail (GT) « Indicateurs Biologiques d'Exposition (IBE) » pour la réalisation des travaux d'expertise.

Les travaux ont été présentés aux CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Le présent avis se fonde, pour les aspects scientifiques, sur le rapport intitulé « Expertise collective en vue de la fixation de valeurs limites d'exposition à des agents chimiques en milieu professionnel relatif à l'évaluation des indicateurs biologiques d'exposition en vue de la recommandation de valeurs limites biologiques et de valeurs biologiques de référence pour l'oxyde de styrène (n° CAS 96-09-3) » (juin 2020).

Le CES VSR a adopté la synthèse et les conclusions de l'expertise collective le 28 novembre 2019. Le rapport et la note d'expertise collective ont fait l'objet d'une consultation publique du 21/04/2020 au 21/05/2020. Aucun commentaire n'a été reçu lors de la consultation. Le CES VSR a adopté cette version finalisée le 25 juin 2020. L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise. Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet de l'Anses ([www.anses.fr](http://www.anses.fr)).

## 3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

### ■ Choix des indicateurs biologiques d'exposition (IBE)

Pour l'oxyde de styrène, huit IBE seraient théoriquement disponibles :

- l'oxyde de styrène dans le sang,
- l'acide mandélique dans l'urine
- l'acide phénylglyoxylique dans l'urine,
- l'acide 1-phényl-2-hydroxy-éthylmercapturique dans l'urine
- l'acide 2-phényl-2-hydroxy-éthylmercapturique dans l'urine,
- les adduits à l'hémoglobine dans le sang
- les adduits à l'albumine dans le sang,
- les adduits à l'ADN dans le sang,

Aucun des IBE décrits n'est spécifique d'une exposition à l'oxyde de styrène puisqu'ils peuvent être présents suite à une exposition au styrène seul, l'oxyde de styrène étant le principal métabolite du styrène. De plus, l'exposition professionnelle concomitante au styrène et à l'oxyde de styrène est habituelle. Ceci implique que les concentrations observées sont difficilement interprétables. Il est donc difficile d'établir des corrélations entre les IBE et les concentrations atmosphériques d'oxyde de styrène.

Parmi les IBE disponibles, notons ce qui suit :

- L'oxyde de styrène sanguin apparaît *a priori* comme un IBE intéressant. Toutefois, sa demi-vie sanguine très courte de 0,7 h (Rappaport *et al.*, 1993) et sa grande réactivité avec les éléments du sang limitent la mise en application de cet IBE.
- Dans la production de plastiques renforcés, une étude a mis en évidence une corrélation entre l'exposition à l'oxyde de styrène et les adduits à l'albumine, mais pas les adduits à l'hémoglobine.
- Les adduits de l'oxyde de styrène à l'ADN semblent aussi avoir un bon potentiel comme IBE. Des études sont disponibles chez les travailleurs et montrent une corrélation entre l'exposition au produit et la formation d'adduits. Comme pour les adduits à l'albumine, il faut noter une influence du tabagisme.

Malgré ces limites, et au regard des données disponibles, **l'oxyde de styrène sanguin, les adduits à l'albumine et les adduits à l'ADN** pourraient *a priori* être utilisés comme IBE pour des expositions exclusives à l'oxyde de styrène (sans exposition concomitante au styrène).

### **Indicateurs biologiques d'effet**

Aucun indicateur biologique d'effet n'a pu être recommandé.

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

Aucune donnée chez l'Homme ne permet de relier des concentrations pour les IBE retenus à des données de cancérogénicité ni à d'autres effets sanitaires. Les études en milieu professionnel rapportant une corrélation entre les concentrations d'oxyde de styrène sanguin et d'oxyde de styrène atmosphérique sont rares.

Cependant, compte tenu du fait :

- que l'oxyde de styrène est un métabolite du styrène et que l'exposition à l'oxyde de styrène est généralement concomitante avec celle du styrène (l'exposition professionnelle à l'oxyde de styrène seul est rare) ;
- qu'il existe très peu de données sur les différents liens entre les expositions et les effets sanitaires, et entre les effets sanitaires et les IBE potentiels ou encore entre les concentrations atmosphériques et les IBE ;
- que la demi-vie de l'oxyde de styrène sanguin est très courte (0,7 h) ;
- qu'il n'existe pas de VLEP pour l'oxyde de styrène disponible à ce jour ;

**aucune valeur limite biologique (VLB) ne peut être recommandée pour la surveillance biologique des expositions professionnelles à l'oxyde de styrène.**

**De plus, dans la mesure où aucune étude en population générale ou dans des populations de témoins non professionnellement exposés ne recense de concentrations pour les trois IBE retenus comme pertinents, aucune VBR ne peut être recommandée.**

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

Conformément aux conclusions de son Comité d'experts spécialisé (CES) « Valeurs Sanitaires de référence », l'Anses ne recommande aucun indicateur biologique pour le suivi des expositions professionnelles à l'oxyde de styrène.

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail ne recommande donc aucune valeur pour la surveillance biologique des travailleurs exposés à l'oxyde de styrène.

Par ailleurs, l'oxyde de styrène étant classé cancérigène 1B par le règlement CLP, l'Anses rappelle que la substitution des substances cancérigènes, mutagènes et toxiques pour la reproduction (CMR) par des substances, mélanges ou procédés moins nocifs doit être une démarche prioritaire dans la prévention du risque chimique et que l'exposition aux CMR, lorsqu'elle ne peut être évitée, doit être réduite au niveau le plus faible possible.

**Dr Roger Genet**

#### MOTS-CLES

Valeurs limites biologiques, indicateurs biologiques d'exposition, valeurs limites, niveaux d'exposition, milieu professionnel, agents chimiques, oxyde de styrène.

Biological limit values, biomarkers of exposure, biological indicators of exposure, limit values, exposure levels, occupational, chemical agents, styrene oxide.

#### CITATION SUGGEREE

Anses. (2022). 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 - Évaluation des indicateurs biologiques d'exposition en vue de la recommandation de valeurs limites biologiques et de valeurs biologiques de référence pour l'oxyde de styrène (n° CAS 96-09-3). (Saisine 2018-SA-0032). Maisons-Alfort : Anses, 5 p.

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

**Évaluation des indicateurs biologiques d'exposition en vue de la  
recommandation de valeurs limites biologiques et de valeurs biologiques de  
référence pour l'oxyde de styrène (n° CAS 96-09-3)**

---

**Mission permanente VLEP  
Saisine « n°2018-SA-0032 »**

**RAPPORT  
d'expertise collective**

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

**Comité d'experts spécialisé « Valeurs sanitaires de référence »**

**Juin 2020**

## Citation suggérée

---

Anses. (2022). Document relatif à l'expertise en vue de la fixation de valeurs limites d'exposition à des agents chimiques en milieu professionnel- Évaluation des indicateurs biologiques d'exposition en vue de la recommandation de valeurs limites biologiques et de valeurs biologiques de référence pour l'oxyde de styrène (n° CAS 96-09-3). (saisine 2018-SA-0032). Maisons-Alfort : Anses, 80 p.

## Mots clés

---

Valeurs limites biologiques, indicateurs biologiques d'exposition, valeurs limites, niveaux d'exposition, milieu professionnel, agents chimiques, oxyde de styrène.

Biological limit values, biomarkers of exposure, biological indicators of exposure, limit values, exposure levels, occupational, chemical agents, styrene oxide.



## Présentation des intervenants

**PRÉAMBULE :** Les experts 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 » (2017 - 2020)

---

#### Président

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

#### Membres

M. Jean-Philippe ANTIGNAC – Ingénieur de recherche (ONIRIS) – Compétences : Toxicologie analytique, Biométrie, Santé environnement - Santé publique

M. Raphaël DELÉPÉE – Professeur des universités (Université de Caen Normandie) – Compétences : Toxicologie analytique, Biomarqueurs d'exposition, Chimie de l'environnement, Chimie analytique

M. R. GARNIER - Médecin toxicologue, Centre antipoison de Paris - Compétences : Toxicologie médicale – Médecine du travail

M. Sami HADDAD – Professeur titulaire à l'Université de Montréal – Compétences : Modélisation PBPK, toxicocinétique, exposition des polluants chimiques, IBE.

Mme Bénédicte LELIEVRE - Praticien hospitalier (CHU d'Angers) - Compétences : toxicologie, santé environnement, santé travail, surveillance biologique.

Mme Nolwenn NOISEL – Associée de recherche (CHU Ste-Justine, Projet CARTaGENE, Canada) – Compétence : Biométrie, IBE, santé publique, santé environnement, santé travail, toxicologie.

M. Renaud PERSOONS – Praticien Hospitalier – (CHU Grenoble) – Compétences : Biométrie, IBE, santé publique, santé environnement, santé travail, toxicologie, évaluation des expositions

M. Alain ROBERT – Responsable du laboratoire « Surveillance Biologique de l'exposition aux Substances Organiques (INRS) – Compétences : chimie, biométrie, IBE

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

Mme Florence ZEMAN – Ingénieur de recherche (INERIS) – compétences : Toxicocinétique, modélisation PBPK, surveillance biologique, écotoxicologie, chimie.

## COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

---

Les travaux, objets du présent rapport ont été suivis et adoptés par le CES suivant :

- CES « Valeurs sanitaires de référence » – 2017-2020

### Président

M. Fabrice MICHIELS – Médecin du travail / toxicologue à l'Association Interentreprises pour la Santé au Travail 19 – Compétences : Médecine du travail, toxicologie

### Membres

M. Marc BARIL – Professeur associé à l'Université de Montréal – Compétences : Chimiste toxicologue, hygiène industrielle

M. Stéphane BINET – Pharmacien toxicologue à la direction scientifique à l'INRS – Compétences : toxicologie générale et industrielle

Mme Michèle BISSON – Responsable d'étude à l'INERIS – Compétences : Pharmacien toxicologue, toxicologie générale

Mme Anne CHEVALIER – Retraitée de l'Institut de Veille Sanitaire - Compétences : épidémiologie

Mme Fatiha EL-GHISSASSI – Scientifique, Section des Monographies du CIRC (IMO) Centre International de Recherche sur le Cancer - Compétences : biochimie spécialiste en cancérogénèse et génotoxicité

M. Claude EMOND – Professeur adjoint de clinique à l'Université de Montréal – Compétences : Toxicologie, modèle PBPK, toxicocinétique, nanotoxicologie, perturbateurs endocriniens

M. Rex FITZGERALD – Expert en toxicologie réglementaire au Centre Suisse de Toxicologie Humaine Appliquée - Compétences : toxicologie de la reproduction, neurotoxicité du développement, évaluation des risques humains

M. Robert GARNIER – Médecin toxicologue, Centre antipoison de Paris - Compétences : Toxicologie médicale, médecine du travail

Mme Perrine HOET – Professeur à l'Université Catholique de Louvain. IREC – Compétences : médecine, toxicologie industrielle et environnementale

Mme Yuriko IWATSUBO – Médecin épidémiologiste à Santé publique France (anciennement Institut de Veille sanitaire) – Compétences : épidémiologie des risques professionnels

Mme Cécile KAIRO – Évaluateur de risques sanitaires à Santé publique France (anciennement Institut de Veille sanitaire) Compétences : Docteur en pharmacie spécialisé en environnement, toxicologie générale et évaluation des risques

Mme Laila LAKHAL – Ingénieur INRA unité Toxalim - Compétences : Toxicologie, métabolisme, perturbateurs endocriniens

M. Frédéric LIRUSSI – Maître de Conférences des Universités– Praticien Hospitalier (MCU-PH) à l'UFR des Sciences de Santé & CHU de Dijon - Compétences : Toxicologie Clinique, Toxicologie analytique, Immunité Innée, Reprotoxicité

Mme Anne MAITRE – Professeur des Universités – Praticien Hospitalier (PU-PH) au Laboratoire de Toxicologie Professionnelle et Environnementale, CHU de Grenoble ; Responsable de l'équipe « Environnement et prédiction de la santé des populations », Laboratoire TIMC, Université Grenoble Alpes – Compétences : médecine, toxicologie, IBE, métrologie des polluants, hygiène industrielle

Mme Anne PLATEL – Maître de conférences à la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille – Laboratoire de Toxicologie Génétique, Institut Pasteur de Lille - Compétences : Toxicologie, Génotoxicité, QSAR

M. Henri SCHROEDER – Enseignant chercheur à l'URAFPA, INRA USC 340, Faculté des Sciences et Technologies, Université de Lorraine - Pharmacien biologiste - Compétences : Neurotoxicité, comportement animal, développement cérébral, exposition périnatale

M. Olivier SORG – Chef de groupe de recherche à l'Université de Genève - Compétences : Docteur es science en biochimie, toxicologie expérimentale, dermatotoxicologie

M. Jérôme THIREAU – Chargé de recherche au CNRS - Compétences : Docteur es science, physiologie animale, biologie cellulaire, cardiotoxicité

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

M. Raymond VINCENT - Retraité (anciennement Chargé de mission à la Direction Déléguée aux Applications (INRS)) - Compétences : chimie, métrologie des polluants, évaluation des risques professionnels

---

## **PARTICIPATION ANSES**

---

### **Coordination scientifique**

Mme Farida LAMKARKACH

### **Contribution scientifique**

Mme Farida LAMKARKACH

Mme Dominique BRUNET

M Christophe ROUSSELLE

Mme Fatoumata SISSOKO

### **Secrétariat administratif**

Mme Patricia RAHYR

## SOMMAIRE

Présentation des intervenants .....	3
Expertise collective : synthèse de l'argumentaire et conclusions .....	8
<b>RAPPORT D'EXPERTISE COLLECTIVE .....</b>	<b>20</b>
Sigles et abréviations .....	21
Liste des tableaux.....	22
Liste des figures .....	22
Préambule .....	23
<b>1 Informations générales.....</b>	<b>25</b>
<b>2 Résumé du profil toxicologique.....</b>	<b>27</b>
<b>3 Données de cinétique et de toxicodynamie relatives à la substance chimique en cause.....</b>	<b>30</b>
<b>3.1 Absorption.....</b>	<b>30</b>
3.1.1 Respiratoire.....	30
3.1.2 Cutanée.....	30
3.1.3 Digestive .....	30
<b>3.2 Distribution.....</b>	<b>30</b>
<b>3.3 Métabolisation .....</b>	<b>31</b>
<b>3.4 Excrétion.....</b>	<b>36</b>
<b>4 Identification des différents indicateurs biologiques d'exposition et indicateurs biologiques d'effets associés à la substance chimique .....</b>	<b>38</b>
<b>4.1 Indicateurs biologiques d'exposition disponibles.....</b>	<b>38</b>
4.1.1 Informations générales .....	39
4.1.2 Avantages et limites des indicateurs biologiques d'exposition .....	45
<b>4.2 Choix des indicateurs biologiques d'exposition identifiés comme pertinents pour le suivi biologique des expositions professionnelles .....</b>	<b>49</b>
<b>4.3 Indicateurs biologiques d'effets disponibles .....</b>	<b>49</b>
<b>5 Informations concernant les indicateurs biologiques identifiés comme pertinents pour la surveillance biologique des professionnels exposés... </b>	<b>50</b>
<b>5.1 Données bibliographiques sur la corrélation entre les niveaux biologiques et les effets sur la santé pour chaque IBE identifié .....</b>	<b>50</b>
<b>5.2 Données bibliographiques sur la corrélation entre l'exposition (atmosphérique et cutanée) et les niveaux biologiques pour chaque IBE identifié.....</b>	<b>50</b>
<b>5.3 Données expérimentales .....</b>	<b>51</b>
<b>5.4 Facteurs pouvant influencer les résultats .....</b>	<b>51</b>
<b>5.5 Modalités de prélèvements.....</b>	<b>53</b>

<b>6</b>	<b>Biométrie</b> .....	<b>55</b>
<b>7</b>	<b>Construction des valeurs limites biologiques et choix de valeurs biologiques de référence</b> .....	<b>57</b>
<b>8</b>	<b>Conclusions du groupe de travail</b> .....	<b>58</b>
<b>9</b>	<b>Bibliographie</b> .....	<b>59</b>
	<b>ANNEXES</b> .....	<b>64</b>
	Annexe 1 : Métabolisation : description des études <i>in vitro</i> .....	65
	Annexe 2 : métabolisation : description des études animales rapportant les formations d'adduits .....	67
	Annexe 3 : Calcul de doses d'exposition correspondant à différents niveaux de risque de cancer .....	69
	Annexe 4 : Position divergente.....	77
	Annexe 5 : Consultation publique .....	78
	Annexe 6 - Suivi des actualisations du rapport .....	79

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

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

**Evaluation des indicateurs biologiques d'exposition en vue de la recommandation de valeurs limites biologiques et de valeurs biologiques de référence pour l'oxyde de styrène (n° CAS 96-09-3)**

---

**Le document synthétise les travaux du comité d'experts spécialisé « Valeurs sanitaires de référence » (CES VSR) 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 (DGT) afin de mener les travaux d'expertise nécessaires à la fixation de valeurs limites d'exposition professionnelle pour l'oxyde de styrène.

La France ne dispose à ce jour d'aucune valeur limite d'exposition professionnelle pour l'oxyde de styrène.

La DGT a demandé à l'agence de proposer des valeurs d'exposition en milieu professionnel basées sur des considérations sanitaires.

L'agence a ainsi évalué les données disponibles afin de statuer sur la pertinence de recommander le suivi d'un ou plusieurs indicateurs et d'établir le cas échéant des valeurs biologiques pour une surveillance biologique des expositions à l'oxyde de styrène en milieu professionnel.

### **Contexte scientifique**

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

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

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

## Définitions du CES

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 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 (Anses, 2017).

## Organisation de l'expertise

L'Anses a confié au comité d'experts spécialisés « Valeurs sanitaires de référence » l'instruction de cette saisine. L'agence a également mandaté le groupe de travail (GT) « Indicateurs biologiques d'exposition (IBE) » pour cette instruction. Les travaux d'expertise du groupe de travail ont été soumis régulièrement au CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Le rapport produit par le groupe de travail tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES.

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

## Prévention des risques de conflits d'intérêts

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

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

## Description de la méthode

Un agent de l'Anses et un rapporteur au sein du GT IBE ont réalisé un rapport de synthèse sur les indicateurs biologiques d'exposition et la recommandation de valeurs limites biologiques (VLB) et de valeurs biologiques de référence (VBR) pour le ou les IBE retenus comme pertinents.

Le rapport de synthèse relatif aux indicateurs biologiques d'exposition à l'oxyde de styrène est issu d'éléments bibliographiques prenant en compte la littérature scientifique parue sur cette substance jusqu'en 2019. La recherche bibliographique a été effectuée dans les bases de données suivantes : Medline, Scopus et la Banque de données en santé publique. Les articles scientifiques retenus pour l'évaluation des données de suivi biologique de l'oxyde de styrène ont été recensés à partir notamment des mots clés suivants : « styrene oxide », « biomarker », « biomonitoring », « biological monitoring », « urine », « blood », « occupational », « analysis method ».

Le rapporteur a réévalué les articles sources 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 « Valeurs sanitaires de référence » (mandat 2017-2020) le 28 novembre 2019<sup>1</sup>.

Ce rapport et les conclusions ont fait l'objet d'une consultation publique du 21/04/2020 au 21/05/2020. Aucun commentaire n'a été reçu lors de la consultation. Le CES VSR (mandat 2017-2020) a adopté cette version finalisée le 25 juin 2020.

## Résultat de l'expertise collective

### Données de toxicocinétique

Les données de toxicocinétique concernant l'oxyde de styrène sont limitées car la majorité des études visent plutôt à investiguer le métabolisme et la distribution du styrène qui est métabolisé à 95% en oxyde de styrène. Les principales données disponibles sont issues d'études réalisées chez l'animal (portant majoritairement sur la voie intrapéritonéale).

#### Absorption

Gaté *et al.* 2012 ont mesuré les concentrations sanguines d'oxyde de styrène chez des rats Fischer suite à une exposition à 25, 50 et 75 ppm d'oxyde de styrène par inhalation (corps entier). Celles-ci étaient de  $0,24 \pm 0,10$  µg/g de sang à 25 ppm,  $0,60 \pm 0,20$  à 50 ppm et  $0,86 \pm 0,43$  à 75 ppm. Dans la même étude, la concentration sanguine moyenne d'oxyde de styrène chez le rat, mesurée suite à une exposition à 1000 ppm de styrène était de  $0,37 \pm 0,08$  µg/g de sang.

Alors que l'absorption par voie cutanée serait lente (CIRC, 1994), l'absorption par voie orale semble rapide (Langvardt and Nolan, 1991). Dans une étude chez des rats Fischer 344, exposés à des doses orales de 275 et 550 mg/kg de poids corporel [p.c.], les concentrations maximales sanguines d'oxyde de styrène ont été observées entre 5 et 15 minutes avec des valeurs variant de 0,27 à 8,84 µg/mL et de 2,1 à 32,4 µg/mL respectivement pour 275 et 550 mg/kg p.c (Langvardt and Nolan, 1991). Les études par injection intrapéritonéale du produit montrent une cinétique plasmatique similaire avec une concentration sanguine maximale atteinte en 7 min chez la souris CD2F1 exposée par injection de 200 mg/kg d'oxyde de styrène (Bidoli *et al.* 1980).

---

<sup>1</sup> Deux experts se sont abstenus en raison des éléments de calculs mis en annexe, qui ne leur paraissait pas pertinents de faire figurer dans ce document. Lors de l'adoption finale (en post-consultation), l'un des experts absent, a souhaité maintenir son abstention.



## Distribution

L'oxyde de styrène se distribue rapidement dans tout l'organisme entraînant des concentrations plus élevées dans le foie, le cerveau, les reins, le duodénum que dans le sang, le poumon et la moelle épinière chez le rat mâle exposé par voie intrapéritonéale (Savolainen et Vainio 1976). Cependant, chez la souris (exposée par la même voie) les concentrations maximales d'oxyde de styrène étaient atteintes 2 heures après injection et étaient plus élevées dans les tissus adipeux sous-cutanés que les autres tissus étudiés (sang, foie, reins, poumons, cerveau) (Nordqvist *et al.*, 1983; Löf *et al.*, 1984).

## Métabolisation

L'oxyde de styrène constitue le principal métabolite du styrène. La Figure 1 détaille le schéma métabolique de l'oxyde de styrène à partir du styrène car, chez l'Homme, le styrène est métabolisé à 95% en oxyde de styrène par l'action des cytochromes P450, principalement le CYP2E1 (ANSES, 2010).

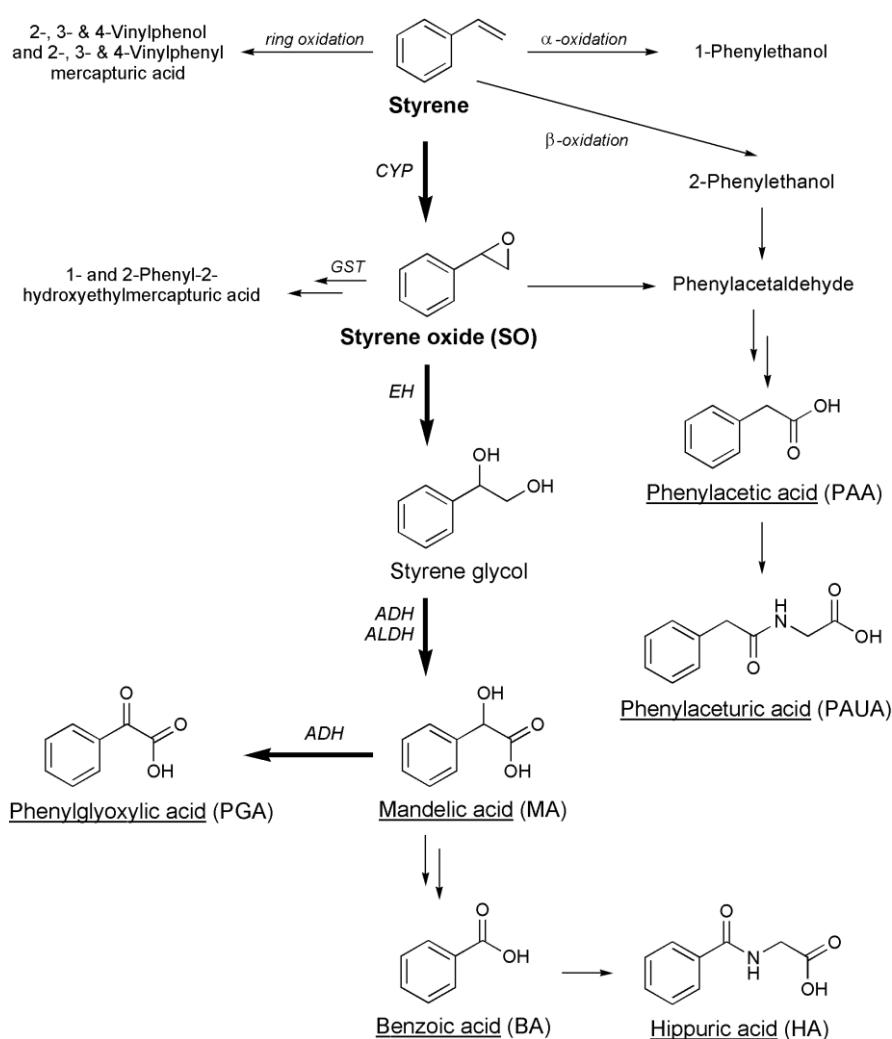


Figure 1 : schéma des principales voies métaboliques du styrène et de l'oxyde de styrène chez l'Homme et l'animal (Cosnier *et al.*, 2012)

Les enzymes métabolisant l'oxyde de styrène sont stéréosélectives. Lors de l'hydrolyse par l'époxyde hydrolase, l'énantiomère *S* est favorisé par rapport au *R* (Watabe *et al.*, 1981) sachant que le (*R*)-styrène 7,8-oxyde s'avère plus toxique que le (*S*)-styrène 7,8-oxyde (Vodicka *et al.*, 2006).

Mendrala *et al.* (1993) ont montré des similitudes et des différences entre la métabolisation du styrène chez l'Homme, le rat et la souris. L'affinité des cytochromes P450 pour le styrène était similaire chez l'Homme et la souris; la vitesse maximale de la réaction ( $V_{max}$ ) était similaire entre le rat et la souris mais inférieure chez l'humain (respectivement de 9,3 ; 13 et 2,1 nmol/mg de protéines par minute). La Constante de Michaelis ( $K_m$ ) de l'époxyde hydrolase pour la conversion de l'oxyde de styrène en styrène glycol était plus faible chez l'Homme que chez la souris (respectivement de 0,01 contre 0,74 mM). Quant à la valeur de  $V_{max}$ , elle ne différait pas entre les espèces. L'activité de la glutathion-S-transférase pour la conversion de l'oxyde de styrène en conjugués au glutathion était plus faible chez l'Homme que chez l'animal.

### Formation d'adduits

#### Chez l'Homme

Yeowell-O'Connell *et al.*, (1996) ont mesuré des adduits à l'hémoglobine et à l'albumine chez 48 travailleurs exposés à l'oxyde de styrène et au styrène (n=20 pour l'oxyde de styrène et 48 pour le styrène). Les échantillons ont subi une hydrolyse basique pour libérer le styrène glycol, représentant la liaison de l'oxyde de styrène à l'acide carboxylique des protéines. Les protéines ont aussi été traitées avec du nickel de Raney, un catalyseur, pour libérer le 1-phényléthanol (1-PE) et le 2-phényléthanol (2-PE), représentant les liaisons de l'oxyde de styrène à la cystéine, respectivement en  $\beta$  et  $\alpha$ . Les auteurs ont étudié les corrélations existantes entre les adduits et les niveaux de styrène et d'oxyde de styrène atmosphériques (Tableau 1).

**Tableau 1 : coefficients de détermination concernant les adduits à l'albumine (Yeowell-O'Connell *et al.*, 1996)**

Adduits à l'albumine (nmol/g albumine)	Corrélation avec l'oxyde de styrène atmosphérique (n=20)	Corrélation avec le styrène atmosphérique (n=48)
1-PE 0,29 ± 0,038	$r^2 = 0,128$ ( $p = 0,122$ )	$r^2 = 0,050$ ( $p = 0,126$ )
2-PE 1,68 ± 0,116	$r^2 = 0,312$ ( $p = 0,010$ )	$r^2 = 0,118$ ( $p = 0,017$ )
Styrène glycol 1,80 ± 0,191	$r^2 = 0,070$ ( $p = 0,259$ )	$r^2 = 0,000$ ( $p = 0,965$ )

Chez les mêmes travailleurs exposés conjointement au styrène et à l'oxyde de styrène, Rappaport *et al.* 1996 rapportent les niveaux d'adduits à l'albumine ( $\alpha$  et  $\beta$ , correspondant respectivement au 2-PE et 1-PE) ainsi que les adduits à l'ADN (position 1 et 2) en fonction du statut fumeur ou non fumeur et de la catégorie d'emploi. Parmi l'ensemble des sujets pour lesquels des mesures d'oxyde de styrène atmosphérique sont disponibles (n=20), seule la corrélation entre les adduits 2-PE et la concentration d'oxyde de styrène est significative ( $r$  de Pearson = 0,559,  $0,01 \leq p < 0,05$ ). Chez les non-fumeurs (n=8), les adduits à l'albumine étaient corrélés aux concentrations atmosphériques d'oxyde de styrène ( $r$  de Pearson = 0,811,  $0,01 \leq p < 0,05$  et  $r$  de Pearson = 0,667,  $0,05 \leq p < 0,1$  respectivement pour le 2-PE et le 1-PE), mais pas les adduits à l'ADN. Chez les fumeurs, aucune corrélation significative entre la formation d'adduits et l'exposition à l'oxyde de styrène n'a été rapportée. Lorsque les sujets sont regroupés par catégorie d'emploi (8 catégories telles que laminage, peinture, service, réparation de moule, etc., dont 6 ont des mesures d'oxyde de styrène), seule la corrélation entre les adduits 2-PE et la concentration d'oxyde de styrène est significative ( $r$  de Pearson = 0,863,  $0,01 \leq p < 0,05$ ). Des analyses complémentaires sont réalisées par catégorie de niveaux d'exposition à l'oxyde de styrène (faible (81,8  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (min-max : 13,4-123  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , n=10) et élevée (236  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (min-max : 142-525  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , n=10)). Les niveaux d'adduits à l'albumine (2-PE)

sont statistiquement plus élevés pour la catégorie fortement exposée ( $p = 0,019$ ) et les fumeurs ( $p = 0,006$ ). Les autres adduits (1-PE et adduits à l'ADN-1 et ADN-2) n'ont pas montré de différences statistiquement significatives. Selon les auteurs, la différence des niveaux d'adduits à l'albumine entre les fumeurs et les non-fumeurs serait expliquée par le fait que la fumée de tabac pourrait contenir de l'oxyde de styrène ou encore par une différence de métabolisme entre les fumeurs et non fumeurs, en particulier une déplétion des époxydes hydrolases.

Fustinoni *et al.* (2008) ont mesuré des adduits à l'albumine (Alb) et à l'hémoglobine (Hb) chez des travailleurs exposés au styrène et à l'oxyde de styrène. L'étude incluait 21 travailleurs dont 8 étaient impliqués dans la production de plastiques renforcés et 13 dans les vernis (exposition par inhalation conjointe de styrène et d'oxyde de styrène) mais également 22 sujets contrôles œuvrant comme mécaniciens automobiles. Les niveaux d'adduits à l'albumine étaient globalement 2 fois plus faibles chez les sujets contrôles que chez les travailleurs exposés alors qu'ils étaient similaires pour les adduits à l'ADN. Les auteurs rapportent que les niveaux d'adduits à l'albumine sont significativement différents entre les sujets exposés et non exposés (contrôles), mais ne diffèrent pas entre les travailleurs des vernis et des plastiques. De plus, aucune différence n'est observée pour les adduits à l'hémoglobine entre les travailleurs exposés et non exposés.

Rappaport *et al.* (1993) ont montré une réactivité 13 fois plus élevée de l'oxyde de styrène pour l'albumine comparativement à l'hémoglobine humaine. Selon Osterman-Golkar *et al.* (1995), cette différence serait attribuable à la forte réactivité de la cystéine 34 de l'albumine sérique. Les auteurs rapportent également que l'albumine sérique a une demi-vie d'environ 20 jours chez l'Homme, les adduits à cette protéine pourraient donc permettre une biosurveillance de l'exposition intégrée sur plusieurs jours.

### Chez l'animal

L'oxyde de styrène se lie aux groupements cystéines des protéines plasmatiques et à l'histidine de l'hémoglobine. Les acides aminés de liaison sont, dans l'ordre de préférence, la cystéine, l'histidine, la lysine et la sérine (CIRC, 2019). Des rates Wistar ayant reçu des doses d'oxyde de styrène par voie intrapéritonéale montraient des adduits des acides esters carboxyliques d'oxyde de styrène à l'hémoglobine avec des niveaux qui augmentaient avec la dose, mais de manière plus marquée aux fortes doses (CIRC, 1994). Une autre étude de la liaison covalente du styrène et de l'oxyde de styrène à l'albumine et à l'hémoglobine a été réalisée chez des rats Sprague-Dawley, après injection intrapéritonéale de produits radiomarqués (styrène et oxyde de styrène). Une relation linéaire a été observée entre les niveaux d'adduits et les doses administrées (de 0,5 à 3 mmol de styrène/kg p.c. et de 0,1 à 1 mmol d'oxyde de styrène/kg p.c.). La comparaison entre les courbes pour les deux produits a révélé une production nettement plus grande d'adduits aux protéines après exposition à l'oxyde de styrène. Ainsi, la pente de la courbe de formation d'adduits suite à l'exposition au styrène représentait seulement 2% de la pente obtenue après exposition à l'oxyde de styrène (CIRC, 1994).

Le CIRC mentionne que l'oxyde de styrène peut aussi former des adduits à l'ADN par alkylation. Il a été montré que les rendements relatifs de formation de ces adduits des désoxynucléotides alkylés dans un tampon aqueux étaient dans l'ordre croissant, la désoxyguanosine, la désoxycytidine, la désoxyadénosine et la thymidine. Le produit dominant de la réaction de l'oxyde de styrène avec l'ADN était la 7-alkylguanine. Les adduits d'oxyde de styrène à la N7-alkylguanosine ont été mis en évidence dans le foie, le cerveau, les poumons, la rate et les testicules de souris après administration intrapéritonéale d'oxyde de styrène. Des liaisons covalentes de l'oxyde de styrène à l'ADN ont également été détectées dans le préestomac de rats (Nordqvist *et al.*, 1983 cité par le CIRC, 1994). Koskinen *et al.* (2000) suggèrent que les adduits à la N7-guanosine devraient être ciblés dans le cas d'une biosurveillance chez l'humain. Cette étude a également montré que la durée de vie des adduits de l'oxyde de styrène varient selon la base de l'ADN impliquée (plus élevée pour la N7-guanosine que pour la N7-adénosine). De plus ces adduits représentent environ 1% des adduits formés.

## Excrétion

La principale voie d'excrétion de l'oxyde de styrène et de ses métabolites chez l'animal est la voie rénale (80% de la dose d'exposition par voie orale retrouvés dans les urines chez le lapin) mais l'excrétion des métabolites acides mercapturiques de l'oxyde de styrène et des dérivés conjugués au glutathion serait dépendante de l'espèce (CIRC, 1994). La demi-vie d'élimination de l'oxyde de styrène *in vitro* dans le sang a été estimée à  $0,70 \pm 0,03$  h chez 2 sujets humains (Rappaport *et al.*, 1993). Chez le rat, dans les mêmes conditions elle est de  $0,36 \pm 0,02$  h. Chez la souris exposée par voie orale, l'oxyde de styrène sanguin a été détecté 5h après l'exposition à des niveaux traces (Langvardt and Nolan, 1991). Selon les auteurs, il y aurait une saturation du processus d'élimination de l'oxyde de styrène. Les métabolites urinaires spécifiques à l'exposition au styrène sont le 4-vinylphénol, le 1-phényléthanol et le 2-phényléthanol. Les métabolites urinaires communs au styrène et à l'oxyde de styrène sont l'acide hydroxyphényléthyl mercapturique, le monoglucuronide de phényléthylène glycol, l'acide mandélique, l'acide hippurique et l'acide phénylglyoxylique (Leibman, 1975). Chez l'Homme, il semble n'y avoir aucune étude de l'excrétion urinaire d'acide mandélique et d'acide phénylglyoxylique suivant une exposition à l'oxyde de styrène. Cependant, les données disponibles suite à une exposition au styrène montrent que la demi-vie de l'acide mandélique est biphasique avec une première phase d'élimination de 4 à 9 h et une phase terminale de 17 à 26 h. La demi-vie de l'acide phénylglyoxylique est de 8 à 10 h après exposition au styrène (ANSES, 2014). Lors d'une exposition au styrène, l'excrétion d'acides mercapturiques est mineure par rapport aux acides mandélique et phénylglyoxylique ; cependant, il n'existe pas d'étude réalisée chez l'Homme permettant de quantifier les concentrations d'acides mercapturiques urinaires suite à une exposition à l'oxyde de styrène.

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

### Indicateurs biologiques d'exposition (IBE)

Nom de l'indicateur biologique d'exposition	Matrice de prélèvement
Oxyde de styrène	Sang
Acide mandélique	Urine
Acide phénylglyoxylique	Urine
Acide 1-phényl-2-hydroxy-éthylmercapturique	Urine
Acide 2-phényl-2-hydroxy-éthylmercapturique	Urine
Adduits à l'hémoglobine	Sang
Adduits à l'albumine	Sang
Adduits à l'ADN	Sang

### Pour chaque IBE, les avantages et inconvénients ont été identifiés.

Aucune étude n'a été identifiée chez l'Homme, permettant de quantifier l'excrétion de métabolites urinaires suivant une exposition à l'oxyde de styrène.

Aucun des IBE décrits n'est spécifique d'une exposition à l'oxyde de styrène puisqu'ils peuvent être présents suite à une exposition au styrène seul (sans impuretés d'oxyde de styrène). De plus, l'exposition professionnelle concomitante au styrène et à l'oxyde de styrène est habituelle comme le montrent les études de terrain de Rappaport *et al.* (1996), de Yeowell-O'Connell *et al.* (1996) et de Tornero-Velez *et al.* (2001). Il est donc difficile d'établir des corrélations entre les IBE et les concentrations atmosphériques d'oxyde de styrène.

Les acides mandélique et phénylglyoxylique sont les métabolites principalement retrouvés dans les urines après une exposition à l'oxyde de styrène. La difficulté rencontrée est de déterminer les quantités urinaires de métabolites provenant de l'exposition à l'oxyde de styrène lors de la présence concomitante de styrène ou d'autres substances qui génèrent ces métabolites. Concernant les acides mercapturiques, il semble que ces IBE ne puissent être recommandés pour la surveillance d'une exposition au styrène en raison notamment du rôle du polymorphisme enzymatique dans la variabilité interindividuelle des niveaux (De Palma *et al.*, 2001). On peut en tirer la même conclusion pour l'exposition à l'oxyde de styrène.

Parmi les IBE possibles, notons ce qui suit :

- L'oxyde de styrène sanguin apparaît *a priori* comme un IBE intéressant. Toutefois, sa demi-vie sanguine très courte de 0,7 h (Rappaport *et al.*, 1993) et sa grande réactivité avec les éléments du sang limitent la mise en application de cet IBE.
- Dans la production de plastiques renforcés, une corrélation a été mise en évidence entre l'exposition à l'oxyde de styrène et les adduits à l'albumine, mais pas les adduits à l'hémoglobine. Bien que cette corrélation n'ait pas été retrouvée dans une autre étude où les expositions étaient plus faibles probablement du fait d'un faible nombre de sujets et d'un bruit de fond élevé et malgré une influence liée au tabagisme, cet IBE est identifié comme pertinent pour le suivi biologique de l'exposition à l'oxyde de styrène.
- Les adduits de l'oxyde de styrène à l'ADN semblent aussi avoir un bon potentiel comme IBE. Il s'agit d'un autre IBE pour lequel des études sont disponibles chez les travailleurs et montrent une corrélation entre l'exposition au produit et la formation d'adduits. Comme pour les adduits à l'albumine, il faut noter une influence du tabagisme.

L'oxyde de styrène sanguin, les adduits à l'albumine et les adduits à l'ADN pourraient donc *a priori* être utilisés comme IBE pour des expositions exclusives à l'oxyde de styrène (sans exposition concomitante au styrène).

### **Indicateurs biologiques d'effet**

Une corrélation entre le niveau d'échanges de chromatides sœurs et l'exposition a été observée dans l'étude de Rappaport *et al.* (1996) chez des travailleurs exposés simultanément au styrène et à l'oxyde de styrène. Les échanges de chromatides sœurs pouvant également être le reflet d'une exposition à plusieurs autres xénobiotiques (tels que butadiène), cet indicateur biologique d'effet n'est donc pas spécifique. Ainsi, aucun indicateur biologique d'effet ne peut donc être recommandé.

**En conclusion, au regard des données disponibles, les trois IBE suivants sont retenus comme pertinents pour la surveillance biologique des professionnels exposés à l'oxyde de styrène (sans exposition concomitante au styrène) : l'oxyde de styrène sanguin, les adduits de l'oxyde de styrène à l'albumine et à l'ADN.**

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

Nom	Oxyde de styrène sang	
Autres substances donnant naissance à cet indicateur biologique d'exposition	Styrène	
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires (avec les expositions et moments de prélèvement si disponibles)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Études de terrain :           <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Tornero-Velez et al., 2001</b> (N= 27)  <math>[\text{SO}]_{\text{atm}}</math> : 5,7 - 119 ppb (28,1 - 585 <math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math>) – (coexposition au styrène : 4,4 - 97 ppm)  <math>[\text{SO}]_{\text{s}}</math> : <math>\approx 0,05 - 0,5 \mu\text{g}/\text{L}</math> FP (extraction immédiate par le n-pentane)  <math>\ln[\text{SO}]_{\text{s}} (\mu\text{g}/\text{L}) = -3,27 + 0,406 \ln[\text{SO}]_{\text{atm}} (\text{ppb})</math>, <math>r=0,62</math></li> <li><b>Serdar et al., 2006</b> (N=328) – Med (min-max)  <math>[\text{SO}]_{\text{atm}}</math> : 17,1 ppb (&lt;1 – 138) - Coexposition au styrène : 9,14 ppm (&lt;1-117 ppm).  <math>[\text{SO}]_{\text{s}}</math> : 0,069 <math>\mu\text{g}/\text{L}</math> (&lt;0,05 – 0,393)</li> </ul> </li> <li>Études sur volontaires : NR</li> </ul>	
Facteur de conversion et poids moléculaire	PM : 120,15 1 $\mu\text{g}/\text{L}$ = 0,0083 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 1 $\mu\text{mol}/\text{L}$ = 120,15 $\mu\text{g}/\text{L}$	
Concentrations dans la population générale <sup>2</sup>	NR	
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	USA - ACGIH (BEI)	NR
	Allemagne - DFG (BAT)	NR
	Québec - IRSST (IBE)	NR
	Finlande - FIOH (BAL)	NR
	Autre(s) valeur(s) (Suisse, ...)	NR
$[\text{SO}]_{\text{atm}}$ : concentration atmosphérique d'oxyde de styrène ; $[\text{SO}]_{\text{s}}$ : concentration sanguine d'OS Med (médiane) – Min-Max (valeurs minimales et maximales) FP : fin de poste		

<sup>2</sup> ou à défaut dans une population de témoins non professionnellement exposés ; 95<sup>ème</sup> percentile ou à défaut la médiane ou la moyenne (nombre de personnes dans l'étude si l'information est disponible)

Nom	Adduits à l'albumine	
Autres substances donnant naissance à cet indicateur biologique d'exposition	Styrène	
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires (avec les expositions et moments de prélèvement si disponibles)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Études de terrain :  <b>Rappaport et al. (1996) et Yeowell-O'Connell et al. (1996)</b> (N=20)  Moy (<math>\pm</math> SE) :  [SO]<sub>atm</sub> : 159 <math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math> (<math>\pm</math> 25,0; 13,4 - 525) (coexposition au styrène : 64,3 <math>\text{mg}/\text{m}^3</math>) <ul style="list-style-type: none"> <li>Oxyde de styrène-albumine (1-PE) : 0,290 <math>\pm</math> 0,038 nmol/g protéine (n=48)</li> <li>Oxyde de styrène-albumine (2-PE) : 1,68 <math>\pm</math> 0,116 nmol/g protéine (n=48)</li> <li>Oxyde de styrène-albumine (SG) : 1,80 <math>\pm</math> 0,191 nmol/g protéine (n=48)</li> </ul> </li> <li><b>Fustinoni et al., 2008</b>, travailleurs des industries des vernis (N=13) et des plastiques renforcés (N=8)  <i>Travailleurs des vernis (N=13)</i> (Med (min-max):  [SO]<sub>atm</sub> : 12,2 (6,7-32,0) <math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math> (coexposition au styrène : 3,4 <math>\text{mg}/\text{m}^3</math>) <ul style="list-style-type: none"> <li>Adduits albumine 1-PE (DP) : 0,48 (0,21-0,75) nmol/g protéine</li> <li>Adduits albumine 2-PE (DP) : 6,18 (2,66-9,53) nmol/g protéine</li> </ul> </li> <li><i>Travailleurs des plastiques (N=8)</i> (Med (min-max)) :  [SO]<sub>atm</sub> : 133,5 (39,5-281,5) <math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math> (coexposition au styrène (Med : 18,2 <math>\text{mg}/\text{m}^3</math>) <ul style="list-style-type: none"> <li>Adduits albumine 1-PE (DP) : 0,23 (&lt;0,03-1,22) nmol/g protéine</li> <li>Adduits albumine 2-PE (DP) : 5,91 (4,40-8,14) nmol/g protéine</li> </ul> </li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>Études sur volontaires : NR</li> </ul>	
Facteur de conversion (avec poids moléculaire)	NR	
Concentrations dans la population générale <sup>3</sup>	<b>Fustinoni et al. 2008</b> Sujets contrôles (n=22 mécaniciens automobiles) (Med (min-max)): <ul style="list-style-type: none"> <li>[SO]<sub>atm</sub> : &lt; LOD (&lt;5 <math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math>)</li> <li>Adduits albumine 1-PE (DP) : 0,19 (&lt;0,03-0,53) nmol/g protéine</li> <li>Adduits albumine 2-PE (DP) : 3,57 (&lt;0,90-5,18) nmol/g protéine</li> </ul>	
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	USA - ACGIH (BEI)	NR
	Allemagne - DFG (BAT)	NR
	Québec - IRSST (IBE)	NR
	Finlande - FIOH (BAL)	NR
	Autre(s) valeur(s) (Suisse, ...)	NR
[SO] <sub>atm</sub> : concentration atmosphérique d'OS ; PE : acide phenyl hydroxyethylmercapturique ; SG : styrène glycol Moy. (moyenne) ; Med (médiane) ; Min-Max (valeurs minimales et maximales) ; SE (standard Error) DP : début de poste		

<sup>3</sup> ou à défaut dans une population de témoins non professionnellement exposés ; 95<sup>ème</sup> percentile ou à défaut la médiane ou la moyenne (nombre de personnes dans l'étude si l'information est disponible)

Nom	Adduits à l'ADN	
Autres substances donnant naissance à cet indicateur biologique d'exposition	Styrène	
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires (avec les expositions et moments de prélèvement si disponibles)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Études de terrain :  <b>Rappaport et al., 1996</b>  [SO]<sub>atm</sub> Moy (± SE) : 159 µg/m<sup>3</sup> (± 25,0), 13,4-525 µg/m<sup>3</sup> (coexposition au styrène (Moy) : 64,3 mg/m<sup>3</sup>) (N=20)  Oxyde de styrène-ADN(1)<sup>1</sup> : 15,8 ± 3,22 RAL x 10<sup>8</sup> (N=47)  Oxyde de styrène-ADN(2)<sup>2</sup> : 14,2 ± 2,30 RAL x 10<sup>8</sup> (N=47)   1. Identifié comme étant du N2-(2-hydroxy-1-phényléthyl)-2'-déoxyguanosine 3,5-biphosphate  2. Non identifié</li> <li>Études sur volontaires : NR</li> </ul>	
Facteur de conversion (avec poids moléculaire)	NR	
Concentrations dans la population générale <sup>2</sup>	NR	
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	USA - ACGIH (BEI)	NR
	Allemagne - DFG (BAT)	NR
	Québec - IRSST (IBE)	NR
	Finlande - FIOH (BAL)	NR
	Autre(s) valeur(s) (Suisse, ...)	NR
[SO] <sub>atm</sub> : concentration atmosphérique d'OS ; Moy : moyenne ; SE : Standard Error ; RAL : Relative Adduct Level (niveau d'adduit relatif)		

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

Aucune donnée chez l'Homme ne permet de relier des concentrations pour les IBE retenus à des données de cancérogénicité ni à d'autres effets sanitaires.

### Etude des corrélations entre les concentrations d'IBE et les concentrations atmosphériques

Les études en milieu professionnel concernant l'exposition à l'oxyde de styrène sont rares.

L'étude de Tornero-Velez *et al.* (2001) rapporte une corrélation entre les concentrations d'oxyde de styrène sanguin et d'oxyde de styrène atmosphérique (équation de corrélation:  $\ln[\text{blood-SO} (\mu\text{g/L})] = -3,27 + 0,406 \ln[\text{SO} (\text{ppb})]$ ,  $r=0,62$ ).

L'étude de Rappaport *et al.* (1996) a mesuré les niveaux d'adduits (albumine et ADN) pour différents niveaux d'exposition à l'oxyde de styrène. Les équations de corrélation ne sont pas rapportées par les auteurs.

Une limite importante de ces études est la coexposition avec le styrène à des niveaux 500 à 1000 fois plus élevés (Fustinoni *et al.* 1998 et 2008).

**De plus, en l'absence de VLEP disponible en France pour l'oxyde de styrène, il n'est pas possible d'utiliser ces équations de corrélation pour élaborer une valeur limite biologique correspondant à une exposition à la VLEP-8h.**



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

Compte tenu du fait :

- que l'oxyde de styrène est un métabolite du styrène et que l'exposition à l'oxyde de styrène est généralement concomitante avec celle du styrène (l'exposition professionnelle à l'oxyde de styrène seul est rare) ;
- qu'il existe très peu de données sur les différents liens entre les expositions et les effets sanitaires, les effets sanitaires et les IBE potentiels ou encore les concentrations atmosphériques et les IBE ;
- qu'il n'existe pas de VLEP pour l'oxyde de styrène disponible à ce jour ;
- que la demi-vie de l'oxyde de styrène sanguin est courte (0,7 h) ;
- qu'il n'existe pas de valeurs d'adduits de l'oxyde de styrène à l'ADN ou à l'albumine en population générale non exposée en dehors de quelques témoins d'études menées chez des travailleurs,

aucune valeur limite biologique (VLB) ne peut être recommandée pour la surveillance biologique des expositions professionnelles à l'oxyde de styrène.

Dans la mesure où aucune étude en population générale ou dans des populations de témoins non professionnellement exposés ne recense de concentrations pour les trois IBE retenus comme pertinents, aucune VBR ne peut être recommandée.

## Conclusions de l'expertise collective

VLB basée sur un effet : **Aucune**

VLB basée sur une VLEP-8h : **Aucune**

VBR : **Aucune**

**L'oxyde de styrène, considéré génotoxique par le CIRC (CIRC 2019), étant classé cancérigène 1B selon le CLP et 2A par le CIRC, l'exposition, doit être réduite au niveau le plus faible possible.**

---

## **RAPPORT D'EXPERTISE COLLECTIVE**

---

## Sigles et abréviations

ACGIH : American Conference of Governmental Industrial Hygienists  
Alb : albumine  
Anses : Agence national de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail  
BAL : Biological action level  
BEI : biological exposure indices  
BAT : Biological Tolerance Values  
CES : Comités d'experts spécialisés  
CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer ou ) ou IARC en Anglais (International Agency for Resarch on Cancer)  
CL<sub>50</sub> : Concentration létale  
CLP : classification, labelling and packaging  
Créat : créatinine  
DER : Direction de l'Evaluation des Risques  
DP : début de poste  
DFG : Deutsche Forschungsgemeinschaft (fondation allemande pour la recherche)  
DL<sub>50</sub> : Dose létale  
ECHA : European chemical agency  
ET : écart-type  
FIOH : Finnish Institute of Occupational Health  
F/H : femmes/hommes  
F/NF : fumeurs/non-fumeurs  
FP : fin de poste  
GC : gas chromatography (chromatographie en phase gazeuse)  
GSH : glutathion sous sa forme réduite  
GSSG : glutathion sous sa forme oxydée  
GST : glutathion S-transférase  
Hb : hémoglobine  
HPLC : High performance liquid chromatography (chromatographie en phase liquide à haute performance)  
HRMS : high resolution mass spectrometry (Chromatographie liquide haute pression couplée à la spectrométrie de masse de haute résolution)  
IBE : indicateur biologique d'exposition  
IC : intervalle de confiance  
INRS : Institut National de Recherche et de Sécurité  
IRSST : Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail  
Km : constante de Michaelis  
Max : maximale  
Med : médiane  
MG : moyenne géométrique  
Min : minimale  
Moy : moyenne

MS : Masse spectrometry (spectrométrie de masse)  
 NCI : negative chemical ionization  
 NR : Non renseigné  
 p.c. : poids corporel  
 PE : phényléthanol  
 PCI : positive chemical ionization  
 PM : poids moléculaire  
<sup>32</sup>P : phosphore 32  
 RSD : relative standard deviation (Ecart type relatif)  
 SE : Standard error (Erreur type)  
 SD : Standard deviation (déviation standard)  
 SG : styrène glycol  
 SO : styrene oxide ou oxyde de styrène en français  
 VLB : valeur limite biologique  
 VBR : valeur biologique de référence  
 Vmax : vitesse maximale de réaction

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Coefficients de détermination concernant les adduits à l'albumine (Yeowell-O'Connell <i>et al.</i> , 1996)	12
Tableau 2 : Coefficients de détermination concernant les adduits à l'albumine (Yeowell-O'Connell <i>et al.</i> , 1996)	34
Tableau 3 : Tableau synthétique des avantages et des inconvénients pour chaque IBE	48
Tableau 4 : Synthèse des facteurs pouvant affecter l'interprétation des résultats de l'oxyde de styrène sanguin	52
Tableau 5 : Synthèse des facteurs pouvant affecter l'interprétation des résultats des adduits à l'albumine	52
Tableau 6 : Synthèse des facteurs pouvant affecter l'interprétation des résultats des adduits à l'ADN	53
Tableau 7 : Fréquence d'apparition des effets cancérigènes du préestomac chez le rat, d'après l'étude de Conti <i>et al.</i> (1988)	69
Tableau 8 : Détermination des BMD correspondantes aux différents effets cancérigènes dans le préestomac chez le rat à partir de l'étude de Conti <i>et al.</i> (1988)	70
Tableau 9 : Calcul de doses d'exposition correspondant aux niveaux de risque de cancer 10 <sup>-4</sup> , 10 <sup>-5</sup> et 10 <sup>-6</sup>	72

## Liste des figures

Figure 1 : schéma métabolique du styrène et de l'oxyde de styrène chez l'Homme et l'animal (Cosnier <i>et al.</i> , 2012)	11
Figure 2 : schéma métabolique du styrène et de l'oxyde de styrène chez l'Homme et l'animal (Cosnier <i>et al.</i> , 2012)	32
Figure 3A, 2B et 2C : Modélisation des données de l'étude de Conti <i>et al.</i> (1988) pour l'estimation d'une BMD pour les effets cancérigènes dans le préestomac chez le rat (A : lésions précancéreuses, B : papillomes et acanthomes, C : carcinomes des cellules squameuses)	71

## 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.

Des recommandations de valeurs biologiques associées à des indicateurs biologiques d'exposition (IBE) afin de permettre un suivi biologique de certaines substances en milieu professionnel font 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).

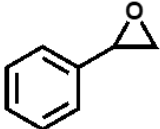
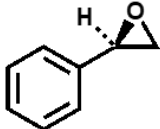
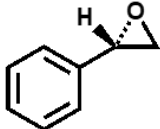
Dans le cas des substances considérées comme cancérigènes sans seuil d'effet, lorsque l'information scientifique disponible permet de faire une évaluation quantitative de risque, les VLB seront exprimées sous forme d'une échelle de 3 concentrations correspondant aux excès de risque individuel (ERI)  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  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...) (Anses, 2017).

# 1 Informations générales

Nom	Oxyde de styrène
Synonymes	<p>Français :</p> <p>(Époxyéthyl)benzène  1,2-époxy-1-phényléthane  1,2-Époxyéthylbenzène  1-phényl-1,2-époxyéthane  2-phényloxirane  Alpha,bêta-époxystyrène  Benzène, (1,2-époxyéthyl)-  Époxy-1,2-phényl-1-éthane  Époxystyrène  Oxyde-7,8 de styrène  Phényl éthylène oxide  Oxyde de phényléthylène</p> <p>Anglais :</p> <p>(epoxyethyl)benzene  Phenethylene oxide  Phenylethylene oxide  Styrene epoxide  Styrene oxide  Styrene-7,8-oxide  Styryl oxide</p>
N° CAS	96-09-3
N° EINECS	202-849-4
Formule	<p>C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  </div> <div style="text-align: center;">  <p>(R)-styrène 7,8-oxyde</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>(S)-styrène 7,8-oxyde</p> </div> </div>
Masse molaire	120,15 g/mol
Forme physique, aspect	Liquide incolore à jaune pâle
Facteur de conversion	1 ppm = 4,91 mg/m <sup>3</sup> aux conditions normales de température (25 °C) et pression (101,3 kPa)
Log K <sub>ow</sub>	1,61 (CIRC, 2019)
VLEP-8h	Non Disponible
Classification CIRC	Probablement cancérigène pour l'Homme (Groupe 2A) (CIRC, 2019)

Classification CLP <sup>4</sup> , (classification harmonisée)	H312 (Nocif par contact cutané) H319 (Provoque une sévère irritation des yeux) H350 (peut provoquer le cancer – cancérogène catégorie 1B) <sup>5</sup>
--	--

L'oxyde de styrène (ou oxyde-7,8-styrène (SO)) est un produit chimique industriel utilisé dans la fabrication de résines époxy et dans le traitement des textiles et des fibres. Il est également utilisé comme intermédiaire dans la préparation de divers agents chimiques agricoles, les cosmétiques et les matières plastiques. Ce dernier est présent dans plusieurs applications industrielles, par exemple, la production de monomères de styrène, résines de polyester, caoutchouc synthétique et dans la fabrication de plastiques renforcés de fibres de verre (Poli *et al.*, 2004). L'oxyde de styrène est également retrouvé comme impureté dans du styrène industriel (Rappaport *et al.*, 1996 ; Fustinoni *et al.*, 2008). Selon l'inventaire 2005 des agents CMR de l'INRS<sup>6</sup>, l'oxyde de styrène était importé en France à hauteur de 1430 tonnes/an, sachant que la substance est enregistrée sur le site de l'ECHA<sup>7</sup> pour l'Union Européenne avec un tonnage de 100 à 1000 t/an. Compte tenu des utilisations industrielles de l'oxyde de styrène comme réactif et comme intermédiaire, les travailleurs de certains secteurs peuvent être exposés de façon concomitante au styrène et à l'oxyde de styrène.

L'oxyde de styrène fait l'objet d'une classification harmonisée dans le cadre du règlement CLP. Cette substance est classée cancérogène catégorie 1B (H350), irritant sévère pour les yeux (H319), nocif en cas de contact avec la peau (H312). Selon le règlement CLP, la présence d'oxyde de styrène dans un mélange, entraîne une classification cancérogène 1B lorsque sa concentration est au moins égale à 0,1 %.

De plus, en mars 2018, le centre international de recherche sur le cancer (CIRC) a procédé à une réévaluation de l'oxyde de styrène et a maintenu le classement en catégorie 2A. Notons au passage que, lors de cette réévaluation, le CIRC s'est également prononcé sur la classification du styrène (largement biotransformé en oxyde de styrène) et que celui-ci est maintenant classé dans le groupe 2A alors qu'il était auparavant dans la catégorie 2B (CIRC, 2019).

Actuellement, aucune VLEP n'est disponible, en France, pour l'oxyde de styrène.

---

<sup>4</sup> RÈGLEMENT (CE) N°1272/2008 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) n° 1907/2006

<sup>5</sup> Site disséminé de l'ECHA disponible via le lien : <https://echa.europa.eu/fr/information-on-chemicals/cl-inventory-database/-/discli/details/71959>, consulté le 14/11/2019

<sup>6</sup> [www.inrs.fr/cmrr/publigen\\_cmrr\\_v2.nsf/allDocRechercheVisu/22B799FD7FB8A9C6C12572FE002F255B?opendocument](http://www.inrs.fr/cmrr/publigen_cmrr_v2.nsf/allDocRechercheVisu/22B799FD7FB8A9C6C12572FE002F255B?opendocument)

<sup>7</sup> European Chemical Agency (<https://echa.europa.eu/fr/registration-dossier/-/registered-dossier/14585> consulté le 18/06/2019)



## 2 Résumé du profil toxicologique

Peu d'effets toxiques sont rapportés chez l'Homme suite à une exposition à l'oxyde de styrène. Les effets aigus connus chez l'animal sont l'irritation de la peau et des yeux (US- EPA 2000). Aucune information n'existe quant aux effets à long terme sur la reproduction, le développement ou les effets cancérogènes chez l'Homme, mais des données sont disponibles chez l'animal.

### Toxicité aiguë

#### Chez l'Homme

Aucune information n'est disponible.

#### Chez l'animal

Des effets toxiques aigus ont été observés lors d'expositions aiguës. Il s'agit principalement d'effets neurologiques, hépatiques et sur la cornée. Une mortalité foétale, accompagnée d'une toxicité maternelle, ont été rapportées chez les rats et les lapins exposés à l'oxyde de styrène (Smyth *et al.*, 1954). Par voie orale, une DL<sub>50</sub> de 4290 mg/kg p.c. a été déterminée chez 5 rats. Pour l'exposition par voie cutanée réalisée chez des lapins albinos pendant 24h, la DL<sub>50</sub> était de 1060 mg/kg p.c. L'exposition aiguë par inhalation de vapeurs d'OS de 6 rats mâles a conduit à une CL<sub>50</sub> de 500 ppm (Smyth *et al.*, 1954 citée par ECHA<sup>8</sup>).

### Irritation et sensibilisation

#### Chez l'Homme

Aucune information n'est disponible.

#### Chez l'animal

Des irritations cutanées ont été rapportées chez le lapin (Weil *et al.*, 1963). Des dommages ont aussi été observés après contact direct avec les yeux et les voies respiratoires (Acros, 2015 ; Weil *et al.*, 1963). L'oxyde de styrène a été classé comme irritant modéré ou sévère pour les yeux à partir d'une étude sur 3 lapins ayant reçu 0,1 ml d'oxyde de styrène dans un œil (l'autre servant de contrôle). Les effets irritants ont duré plus de 24h mais avaient disparu après 21 jours (Sugai *et al.*, 1990).

### Génotoxicité et mutagenicité

#### Chez l'Homme

La génotoxicité de l'oxyde de styrène a été rapportée chez les travailleurs exposés simultanément au styrène et à l'oxyde de styrène (Rappaport *et al.*, 1996). En effet, des adduits à l'ADN de l'oxyde de styrène ont été identifiés avec une relation dose-réponse. La structure des adduits détectés montre que l'interaction avec l'ADN nécessite les propriétés électrophiles fortes de la fonction époxyde de l'oxyde de styrène. La présence de ces adduits démontre le caractère génotoxique direct de l'oxyde de styrène. D'autres biomarqueurs moins spécifiques du mode d'action génotoxique montrent un effet clastogène par la méthode des comètes (Vaghef et Hellman, 1998 ; Tsuda *et al.*, 2000 ; Sasaki *et al.*, 1997). Les deux dernières références convergent vers une dose de 400 mg/kg pour cette clastogénicité.

---

<sup>8</sup> Site disséminé de l'ECHA : <https://echa.europa.eu/fr/registration-dossier/-/registered-dossier/14585> consulté en septembre 2019

### *Chez l'animal*

#### *In vivo*

Des aberrations chromosomiques ont été rapportées (Norppa *et al.*, 1979 ; Sinsheimer *et al.*, 1993) ainsi que des mutations létales récessives chez la drosophile (Donner *et al.*, 1979).

#### *In vitro*

Des effets mutagènes ont également été rapportés sur *Salmonella typhimurium* TA1530, TA1535 et TA100 avec et sans activation métabolique (fraction S9 de microsomes de rats), confirmant le caractère mutagène ou génotoxique direct de l'oxyde de styrène (de Meester *et al.* 1981). La concentration mutagène sur la souche TA1535 est de 2 µmoles par plaque (Busk, 1979).

## **Toxicité chronique et cancérogénicité**

### *Chez l'Homme*

Aucune donnée n'est disponible.

### *Chez l'animal*

Les principaux effets chroniques associés à une exposition à l'oxyde de styrène sont des effets cancérogènes chez les rats et les souris. Plusieurs études rapportent l'induction de carcinomes et de papillomes des cellules squameuses du préestomac chez la souris B6C3F1 (une étude) et le rat Fisher 344 (2 études) après exposition par gavage pour des doses allant de 50 à 800 mg/kg/j (Cantoreggi *et al.*, 1993 ; Lijinski, 1986, Dalby *et al.*, 1996), ou encore chez le rat Sprague-Dawley à partir de 50 mg/kg/j (Conti *et al.*, 1988 ; Maltoni, 1979). Plusieurs de ces auteurs mentionnent une irritation du tube gastrique qui pourrait être à l'origine de l'effet cancérogène observé (Maltoni, 1979 ; Cantoreggi *et al.*, 1993). Cependant, pour ces différentes études, la relation dose-réponse n'était pas toujours claire (Cantoreggi *et al.*, 1993). Dans une des deux études par gavage chez le rat, l'incidence des tumeurs mammaires (bénignes ou malignes) était également augmentée chez les mâles.

Le préestomac n'existant pas chez l'humain, il est légitime de s'interroger sur la transposition à l'Homme de l'effet cancérogène observé chez l'animal. D'après un groupe de travail du CIRC réuni en 1999, les substances cancérogènes réagissant avec l'ADN et générant des tumeurs du préestomac chez les rongeurs doivent être évaluées comme des substances présentant un risque cancérogène chez l'humain (CIRC, 2003).

## **Toxicité pour la reproduction**

### *Chez l'Homme*

Aucune donnée n'est disponible.

### *Chez l'animal*

Une étude s'est penchée sur les effets de l'oxyde de styrène sur le système reproducteur de rats. Une exposition répétée à 100 ppm ou 300 ppm de vapeurs d'oxyde de styrène a été réalisée durant 7 h par jour, 5 jours par semaine, pendant 3 semaines (corps entier). L'exposition à 300 ppm a été arrêtée immédiatement pour cause de décès. L'expositions à 100 ppm a également causé des décès. Outre les effets observés chez les génitrices, des effets ont été observés sur les embryons et sur les fœtus : perte d'embryons, diminution du poids et de la longueur des fœtus et retard dans l'ossification des sternèbres et de l'os occipital. Dans la même étude, des lapins ont également été exposés à des concentrations moindres (0, 15 et 50 ppm) durant 7 heures par jour, du 1<sup>er</sup> au 24<sup>ème</sup> jour de gestation et les fœtus ont été examinés au 30<sup>ème</sup> jour. Une augmentation des pertes embryonnaires post-implantation a été observée aux deux doses ainsi que des effets maternels à la

dose la plus élevée (décès, diminution de la consommation de nourriture et perte de poids) (Sikov *et al.*, 1986 cité par le CIRC, 1994).

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

Les données sur la cinétique d'absorption et d'excrétion de l'oxyde de styrène sont limitées, car la majorité des études visent plutôt à comprendre le métabolisme et la distribution du styrène qui est métabolisé à 95% en oxyde de styrène. Ces études ont été réalisées *in vivo* sur l'animal entier ou par une technique *in vitro* sur des organes d'animaux isolés et perfusés ou encore à partir de préparations microsomiales. Par ailleurs, les données cinétiques animales *in vivo* portent principalement sur la voie d'exposition intrapéritonéale.

#### 3.1 Absorption

L'absorption de l'oxyde de styrène peut s'effectuer par la voie cutanée, pulmonaire et digestive.

##### 3.1.1 Respiratoire

Peu de données sont disponibles sur l'absorption par voie pulmonaire.

Dans une étude, des rats mâles Fischer 344 ont été exposés par inhalation dans une chambre (corps entier) au styrène (75, 300 et 1000 ppm) ou à de l'oxyde de styrène (25, 50 et 75 ppm) pendant 6h/j, 5 j/semaine pendant 4 semaines. Les auteurs rapportent des concentrations moyennes d'oxyde de styrène sanguin de  $0,24 \pm 0,10$  µg/g de sang à 25 ppm,  $0,60 \pm 0,20$  à 50 ppm et  $0,86 \pm 0,43$  à 75 ppm. En comparaison, la concentration moyenne d'oxyde de styrène sanguin, mesurée suite à une exposition à 1000 ppm de styrène, était de  $0,37 \pm 0,08$  µg/g de sang. Les auteurs ajoutent que, pour une exposition à 75 ppm de styrène, la méthode n'était pas assez sensible pour quantifier l'oxyde de styrène sanguin (Gaté, 2012).

##### 3.1.2 Cutanée

L'absorption par la voie cutanée est peu documentée mais serait très lente (CIRC, 1994). Il semblerait que l'absorption soit significative uniquement dans le cas où l'exposition produit des lésions cutanées sévères (Bingham *et al.*, 2001).

##### 3.1.3 Digestive

L'absorption par voie orale semble rapide. Dans une étude chez des rats Fischer 344, les concentrations maximales sanguines d'oxyde de styrène ont été observées entre 5 et 15 minutes après l'administration orale de 275 et 550 mg/kg de poids corporel [p.c.] d'oxyde de styrène dans de l'huile de maïs (4 rats par dose). Une grande variabilité a toutefois été observée avec des valeurs individuelles allant de 0,27 à 8,84 µg/mL et de 2,1 à 32,4 µg/mL après administration orale de 275 et 550 mg d'oxyde de styrène/kg p.c., respectivement (Langvardt and Nolan, 1991). Les variations de concentrations sanguines d'oxyde de styrène observées chez le rat pourraient résulter d'une variation dans l'absorption du produit (Langvardt and Nolan, 1991). La biodisponibilité de l'oxyde de styrène pouvait être affectée par l'environnement acide de l'estomac qui provoquerait l'hydrolyse de l'oxyde de styrène comme ceci était constaté *in vitro* (Ross *et al.*, 1982).

#### 3.2 Distribution

Après injection intrapéritonéale de 460 µmol d'oxyde de styrène radiomarqué chez des rats mâles, les concentrations étaient plus élevées dans le foie, le cerveau, les reins et le duodénum que dans le sang, les poumons et la moelle épinière (Salvolainen et Vainio 1976). Le composé était éliminé

en 3 à 6 heures après l'injection (Clayton, 1981). Par comparaison, après injection intrapéritonéale de styrène chez la souris, les concentrations maximales d'oxyde de styrène étaient atteintes 2 heures après injection et étaient plus élevées dans les tissus adipeux sous-cutanés que les autres tissus étudiés (sang, foie, reins, poumons, cerveau) (Nordqvist *et al.*, 1983; Löf *et al.*, 1984).

### 3.3 Métabolisation

L'oxyde de styrène constitue le principal métabolite du styrène (Figure 1). Chez l'Homme, le styrène est métabolisé à 95% en oxyde de styrène, par l'action des cytochromes P450 principalement le CYP2E1 (ANSES, 2010). L'oxyde de styrène est majoritairement transformé en styrène glycol sous l'action de l'époxyde hydrolase (Cosnier *et al.*, 2012). Ce métabolite est à son tour transformé en acide mandélique par l'alcool déshydrogénase et l'aldéhyde déshydrogénase. Enfin, si l'acide mandélique n'est pas directement éliminé par les reins, il est transformé en acide phénylglyoxylique ou en acide hippurique par l'alcool déshydrogénase (ANSES, 2010). Dans une moindre mesure (moins de 1%), l'oxyde de styrène est converti par la glutathion S-transférase en deux types de dérivés du glutathion (GSH) (1 ou 2), les acides mercapturiques 1-phényl-2-hydroxy-éthylmercapturique et 2-phényl-2-hydroxy-éthylmercapturique. De petites quantités d'acide phénylglyoxylique peuvent se convertir en phénylglycine (Fustinoni *et al.*, 2008).

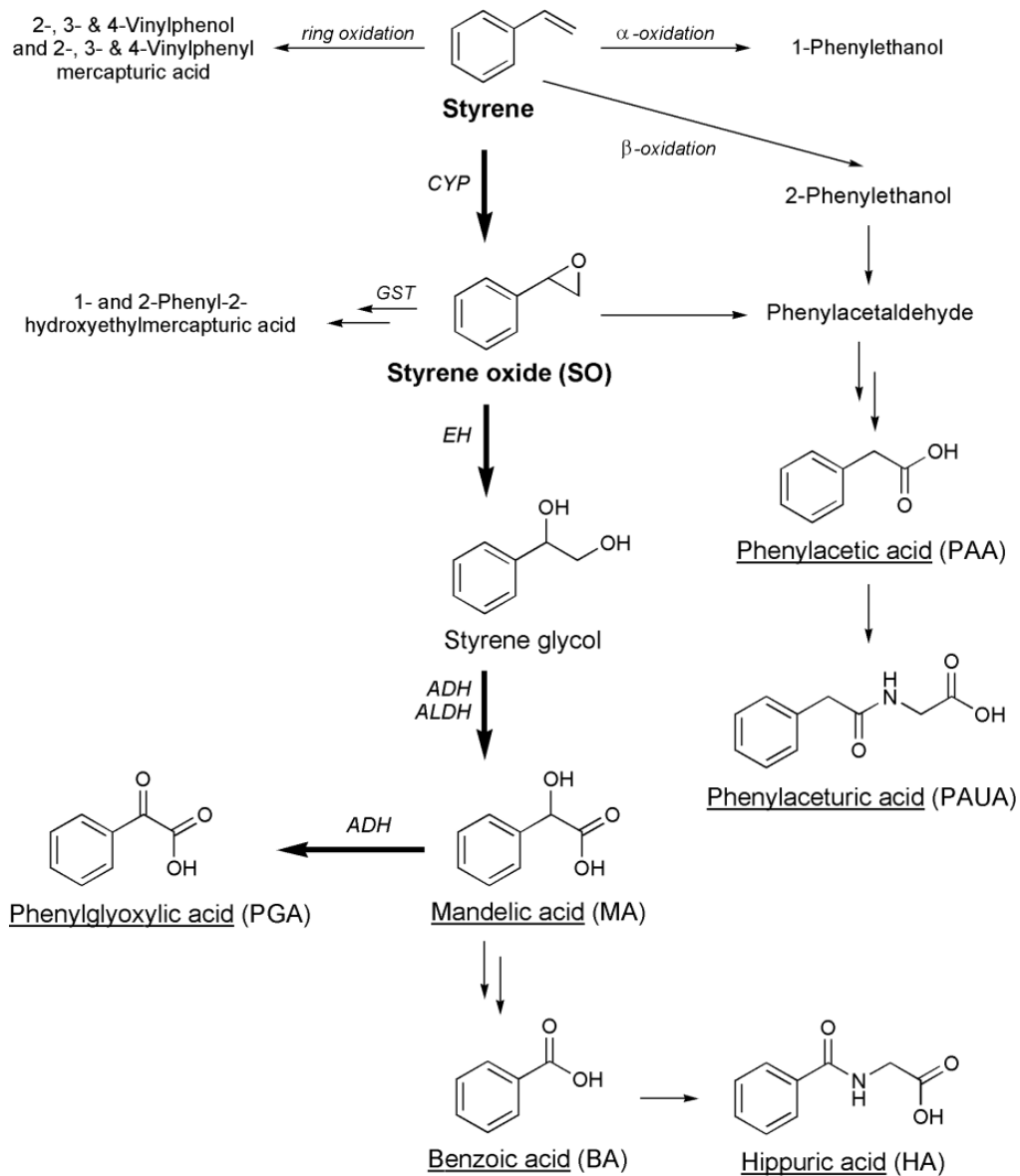


Figure 2 : schéma des principales voies métaboliques du styrène et de l'oxyde de styrène chez l'Homme et l'animal (Cosnier et al., 2012)

Les enzymes métabolisant l'oxyde de styrène sont stéréosélectives. Lors de l'hydrolyse par l'époxyde hydrolase, l'énantiomère *S* est favorisé par rapport au *R* (Watabe *et al.*, 1981) (les études sont détaillées en annexe 1). Le (*R*)-styrène 7,8-oxyde s'avère plus toxique que le (*S*)-styrène 7,8-oxyde (Vodicka *et al.*, 2006).

Des études réalisées à partir de foies de rats isolés et perfusés ont aussi montré un métabolisme hépatique rapide de l'oxyde de styrène en styrène glycol, en acide mandélique et conjugués au glutathion. Les conjugués de l'oxyde de styrène au glutathion étaient le S-(1-phényl-2-hydroxyéthyl)glutathion à 60% et le S-(2-phényl-2-hydroxyéthyl)glutathion à 40% (CIRC, 1994).

Le CIRC mentionne l'étude de Mendrala *et al.* (1993) qui a montré des similitudes et des différences entre la métabolisation du styrène et de l'oxyde de styrène chez l'Homme, le rat et la souris. Des morceaux de foie de cinq donneurs d'organes ont été utilisés pour les fins de l'étude. Aucune information n'était disponible sur les donneurs à l'exception du fait qu'ils n'étaient pas atteints de maladies pouvant affecter le foie comme une infection au virus d'immunodéficience humaine ou l'hépatite A ou B. L'activité des cytochromes P450 (transformation du styrène en oxyde de styrène) et des formes microsomiales et cytosoliques de l'époxyde hydrolase (transformation de l'oxyde de styrène en styrène glycol) ainsi que de la glutathion-S-transférase (transformation de l'oxyde de styrène en conjugués au GSH) a été comparée *in vitro* sur des cultures d'hépatocytes d'humains, de rats Sprague-Dawley et de souris B6C3F1. L'affinité des cytochromes P450 pour le styrène (valeur de la constante de Michaelis-Menten ( $K_m$ )) était similaire chez l'Homme (0,09 mM) et la souris (0,05 mM) ; la  $V_{max}$  était similaire entre le rat et la souris (9,3 à 13 nmol/mg de protéines par minute), et inférieure chez l'humain (2,1 nmol/mg de protéines par minute). La  $K_m$  de l'époxyde hydrolase pour la conversion de l'oxyde de styrène en styrène glycol était faible chez l'Homme (0,01 mM), moyenne chez le rat (0,13-0,23 mM) et élevée chez la souris (0,74 mM) ; la valeur de  $V_{max}$  ne différait pas entre les espèces. L'activité de la glutathion S-transférase pour la conversion de l'oxyde de styrène en conjugués au glutathion était plus faible chez l'Homme que chez l'animal (CIRC, 1994).

Les études *in vitro* concernant la métabolisation de l'oxyde de styrène sont décrites en annexe (annexe 2).

## **Formation d'adduits**

### *Chez l'Homme*

Des adduits à l'hémoglobine et à l'albumine ont été mesurés chez 48 travailleurs exposés à l'oxyde de styrène et au styrène dans la production de plastiques renforcés pour les bateaux (Yeowell-O'Connell *et al.*, 1996). Les concentrations dans l'air ont été mesurées de manière répétée sur une période d'un an à partir d'échantillonneurs personnels sur 20 sujets pour l'oxyde de styrène et 48 sujets pour le styrène. Les concentrations de styrène dans l'air variaient de 0,9 à 235 mg/m<sup>3</sup> avec une moyenne de 64,3 mg/m<sup>3</sup> et les concentrations d'oxyde de styrène variaient de 13,4 à 525 µg/m<sup>3</sup> avec une moyenne de 159 µg/m<sup>3</sup>. Les adduits de l'oxyde de styrène à la cystéine et aux résidus acide carboxylique de l'hémoglobine et de l'albumine ont été mesurés à une ou plusieurs reprises pour chaque travailleur afin de déterminer les corrélations entre l'exposition (styrène et oxyde de styrène) et les adduits formés avec l'oxyde de styrène et le styrène. Les échantillons ont subi une hydrolyse basique pour libérer le styrène glycol, représentant la liaison de l'oxyde de styrène à l'acide carboxylique des protéines. Les protéines ont aussi été traitées avec du nickel de Raney, un catalyseur, pour libérer le 1-phényléthanol (1-PE) et le 2-phényléthanol (2-PE), représentant les liaisons de l'oxyde de styrène à la cystéine, respectivement en  $\beta$  et  $\alpha$ . Ces analytes ont été extraits, dérivés et analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Les concentrations d'adduits à l'hémoglobine étaient de  $0,08 \pm 0,01$ ,  $0,08 \pm 0,003$  et  $0,48 \pm 0,13$  nmol/g Hb (moyenne  $\pm$  écart type) respectivement pour les adduits aux 1-PE, 2-PE et styrène glycol. Les concentrations d'adduits à l'albumine étaient de  $0,29 \pm 0,04$ ,  $1,68 \pm 0,12$  et  $1,80 \pm 0,19$  nmol/g albumine (moyenne  $\pm$  écart type) respectivement pour les adduits aux 1-PE, 2-PE et styrène glycol. Toutefois, les auteurs rapportent des niveaux relativement élevés des adduits à l'albumine chez des sujets témoins :  $0,148 \pm 0,027$  (n=26) ;  $1,18 \pm 0,068$  (n=78) ;  $0,862 \pm 0,079$  (n=34), respectivement

pour les adduits aux 1-PE, 2-PE et styrène glycol. Aucune association entre l'augmentation de l'exposition atmosphérique au styrène ou à l'oxyde de styrène et les niveaux d'adduits de l'hémoglobine n'a été mise en évidence (la plus faible valeur de p pour ces corrélations était de 0,18). Pour les adduits à l'albumine, les coefficients de détermination sont présentés dans le Tableau 2.

**Tableau 2 : coefficients de détermination concernant les adduits à l'albumine (Yeowell-O'Connell et al., 1996)**

Adduits à l'albumine (nmol/g albumine)	Corrélation avec l'oxyde de styrène atmosphérique (n=20)	Corrélation avec le styrène atmosphérique (n=48)
1-PE 0,29 ± 0,038	$r^2 = 0,128$ ( $p = 0,122$ )	$r^2 = 0,050$ ( $p = 0,126$ )
2-PE 1,68 ± 0,116	$r^2 = 0,312$ ( $p = 0,010$ )	$r^2 = 0,118$ ( $p = 0,017$ )
Styrène glycol 1,80 ± 0,191	$r^2 = 0,070$ ( $p = 0,259$ )	$r^2 = 0,000$ ( $p = 0,965$ )

Une autre étude de la même équipe (Rappaport *et al.*, 1996), chez les mêmes travailleurs exposés conjointement au styrène et à l'oxyde de styrène, rapporte les niveaux d'adduits à l'albumine ( $\alpha$  et  $\beta$ , correspondant respectivement au 2-PE et 1-PE) ainsi que les adduits à l'ADN (position 1 et 2) en fonction du statut fumeur ou non fumeur et de la catégorie d'emploi. Lorsque l'ensemble des sujets pour lesquels des mesures d'oxyde de styrène atmosphérique sont disponibles (n=20), seule la corrélation entre les adduits 2-PE et la concentration d'oxyde de styrène est significative (r de Pearson = 0,559,  $0,01 \leq p < 0,05$ ). Chez les non-fumeurs (n=8), les adduits à l'albumine étaient corrélés aux concentrations atmosphériques d'oxyde de styrène (r de Pearson = 0,811,  $0,01 \leq p < 0,05$  et r de Pearson = 0,667,  $0,05 \leq p < 0,1$  respectivement pour le 2-PE et le 1-PE), mais pas les adduits à l'ADN. Chez les fumeurs, aucune corrélation significative entre la formation d'adduits et l'exposition à l'oxyde de styrène n'a été rapportée. Lorsque les sujets sont regroupés par catégorie d'emploi (8 catégories telles que laminage, peinture, service, réparation de moule, etc., dont 6 ont des mesures d'oxyde de styrène), seule la corrélation entre les adduits 2-PE et la concentration d'oxyde de styrène est significative (r de Pearson = 0,863,  $0,01 \leq p < 0,05$ ). Des analyses complémentaires sont réalisées par catégorie de niveau d'exposition à l'oxyde de styrène (faible ( $81,8 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (min-max :  $13,4-123 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , n=10) et élevée ( $236 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (min-max :  $142-525 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , n=10)). Les adduits à l'albumine (2-PE) sont statistiquement plus élevés pour la catégorie fortement exposée ( $p = 0,019$ ) et les fumeurs ( $p = 0,006$ ). Les autres adduits (1-PE et adduits à l'ADN-1 et ADN-2) n'ont pas montré de différences statistiquement significatives. Selon les auteurs, la différence des niveaux d'adduits à l'albumine entre les fumeurs et les non-fumeurs serait expliquée par le fait que la fumée de tabac pourrait contenir de l'oxyde de styrène ou encore par une différence de métabolisme entre les fumeurs et non fumeurs, en particulier une déplétion des époxydes hydrolases. A partir de l'équation de régression des concentrations d'oxyde de styrène atmosphérique avec les adduits à l'albumine, les auteurs ont estimé que la proportion d'oxyde de styrène rejoignant la circulation systémique représentait environ 0,05% de la dose de styrène. À partir de l'équation linéaire et la pente de la droite, les auteurs ont également estimé que la dose systémique d'oxyde de styrène provenant de l'exposition au styrène se situe entre 10 et 76%, avec une valeur médiane à 29% (Rappaport *et al.*, 1996).

Dans une étude plus récente, Fustinoni *et al.* (2008) ont mesuré les adduits à l'albumine (Alb) et à l'hémoglobine (Hb) avec la même technique analytique que celle précédemment décrite, chez 21 travailleurs dont 8 étaient impliqués dans la production de plastiques renforcés et 13 dans les vernis (exposition par inhalation conjointe de styrène et d'oxyde de styrène). L'étude incluait également 22



sujets contrôles œuvrant comme mécaniciens automobiles. Les concentrations de styrène et d'oxyde de styrène étaient les suivantes : médiane (min-max) de styrène 3,4 (0,55-16,0) mg/m<sup>3</sup> et 18,2 (2,3-93,4) mg/m<sup>3</sup>, respectivement pour les travailleurs des vernis et des plastiques, oxyde de styrène 12,2 (6,7-32,0) µg/m<sup>3</sup> et 133,5 (39,5-281,5) µg/m<sup>3</sup>. Pour les contrôles, ces concentrations étaient situées sous les limites de détection (0,3 mg/m<sup>3</sup> pour le styrène et 5 µg/m<sup>3</sup> pour l'oxyde de styrène). Les adduits à l'albumine (nmol/g protéine) étaient respectivement de 0,48 (0,21-0,75) et 0,23 (<0,03-1,22) pour le 1-PE des travailleurs des vernis et des plastiques et 6,18 (2,66-9,53) et 5,91 (4,40-8,14) pour le 2-PE. Les adduits à l'hémoglobine (nmol/g protéine) variaient de 0,11 (<0,03-0,55) à 0,20 (<0,03-0,74) pour le 1-PE chez les travailleurs des vernis et des plastiques et de 2,80 (<0,60-4,48) à 2,31 (2,18-5,12) pour le 2-PE. Les adduits à l'albumine étaient globalement 2 fois plus faibles chez les sujets contrôles que chez les travailleurs exposés alors qu'ils étaient similaires pour les adduits à l'ADN. Les auteurs rapportent que les niveaux d'adduits à l'albumine sont significativement différents entre les sujets exposés et non exposés (contrôles), mais ne diffèrent pas entre les travailleurs des vernis et des plastiques. De plus, aucune différence n'est observée pour les adduits à l'hémoglobine entre les travailleurs exposés et non exposés.

Rappaport *et al.* (1993) ont montré une réactivité 13 fois plus élevée de l'oxyde de styrène pour l'albumine comparativement à l'hémoglobine humaine. Osterman-Golkar *et al.* (1995) ont mentionné que cette différence était principalement attribuable à la forte réactivité de la cystéine 34 de l'albumine sérique. Chez l'Homme, l'albumine sérique a une demi-vie d'environ 20 jours ; à condition que les adduits soient stables au cours de cette période de temps, les adduits à cette protéine pourraient être selon certains auteurs intéressants pour la biosurveillance (Osterman-Golkar *et al.*, 1995).

#### Chez l'animal

L'oxyde de styrène se lie aux groupements cystéine des protéines plasmatiques et à l'histidine de l'hémoglobine. Les acides aminés de liaison sont, dans l'ordre de préférence, la cystéine, l'histidine, la lysine et la sérine (CIRC, 1994 et 2019).

Chez des souris recevant 5-135 mg d'oxyde de styrène radiomarqué/kg p.c. (ou 0,04-1,125 mmol/kg p.c.) par injection intrapéritonéale, une relation dose-réponse non-linéaire a été rapportée avec une augmentation plus forte du taux de production d'adduits de l'oxyde de styrène à l'hémoglobine (valine N-terminale) à partir de 0,4 mmol/kg p.c., suggérant ainsi une saturation du système de détoxification. Les adduits de l'oxyde de styrène à la valine (groupement N-terminal) sont 2 à 3 fois plus élevés chez la souris NMRI que chez le rat Sprague Dawley à faibles concentrations (≤0,4 mmol/kg p.c.) (Osterman-Golkar, 1992). De façon similaire, des rates Wistar ayant reçu des doses de 83 à 833 µmol d'oxyde de styrène/kg p.c. par voie intrapéritonéale montraient des adduits des acides esters carboxyliques d'oxyde de styrène à l'hémoglobine. Les niveaux augmentaient avec la dose, mais également de manière plus marquée aux fortes doses. Les niveaux d'adduits étaient de 16,7 et 724 pmol/g de globine aux doses de 83 et 833 µmol/kg p.c., respectivement (Sepai *et al.* 1993).

Une autre étude de la liaison covalente du styrène et de l'oxyde de styrène à l'albumine et à l'hémoglobine a été réalisée chez des rats Sprague-Dawley, après injection intrapéritonéale de produits radiomarqués (styrène et oxyde de styrène). Une relation linéaire a été observée entre les niveaux d'adduits et les doses administrées de 0,5 à 3 mmol de styrène/kg p.c. et de 0,1 à 1 mmol d'oxyde de styrène/kg p.c. La comparaison entre les courbes pour les deux produits a révélé une production nettement plus grande d'adduits aux protéines après exposition à l'oxyde de styrène. Ainsi, la pente de la courbe de formation d'adduits suite à l'exposition au styrène représentait seulement 2% de la pente obtenue après exposition à l'oxyde de styrène (Rappaport *et al.*, 1993).

L'étude de Mraz *et al.* (2016) montre que les adduits de l'oxyde de styrène à l'histidine et la cystéine, issus des adduits à la globine, étaient détectables dans l'urine de rats Wistar 60 jours après une administration intrapéritonéale unique d'oxyde de styrène de 1000 mg/kg. De même, des adduits à

la valine, à la cystéine et l'histidine sont détectables après hydrolyse acide de la globine sanguine. Les adduits sont dosés par HPLC-HRMS après extraction en phase solide (Mraz 2016).

Le CIRC mentionne que l'oxyde de styrène peut aussi former des adduits à l'ADN par alkylation. Il a été montré que les rendements relatifs de formation de ces adduits des désoxynucléotides alkylés dans un tampon aqueux étaient, dans l'ordre croissant, la désoxyguanosine, la désoxycytidine, la désoxyadénosine et la thymidine. Le produit dominant de la réaction de l'oxyde de styrène avec l'ADN était la 7-alkylguanine. La réaction de l'oxyde de styrène radiomarqué avec de l'ADN simple brin a donné plus d'adduits qu'avec de l'ADN double brin. La majorité étaient des adduits N7-guanosine (74%) avec des proportions similaires pour les isomères  $\alpha$  et  $\beta$ . Le taux de dépurination des dérivés de N7-alkyldésoxyguanosine de l'oxyde de styrène était similaire à celui de la N7-méthyl-désoxyguanosine, tandis que la dépurination du 7-alkylguanine était 15 fois plus lente au niveau de l'ADN simple brin et 55 fois plus lente au niveau de l'ADN double brin. Les adduits d'oxyde de styrène à la N7-alkylguanosine ont été mis en évidence dans 5 organes de souris (foie, cerveau, poumons, rate et testicules) après administration intrapéritonéale d'oxyde de styrène. Des liaisons covalentes de l'oxyde de styrène à l'ADN ont également été détectées dans le préestomac de rats (Nordqvist *et al.*, 1983 cité par le CIRC, 1994).

Koskinen *et al.* (2000) suggèrent que les adduits à la N7-guanosine devraient être ciblés dans le cas d'une biosurveillance chez l'humain. Cette étude a également montré que les durées de vie des adduits de l'oxyde de styrène varient selon la base de l'ADN impliquée : la demi-vie de dépurination des isomères  $\alpha$  et  $\beta$  des adduits de l'oxyde de styrène à la N7-guanosine était de 51 heures à pH 7,4 alors que les adduits à la N3-adénosine étaient moins stables avec des demi-vies de 10 et 20 h pour les isomères  $\alpha$  et  $\beta$ , respectivement. De plus, ces adduits représentent environ 1% des adduits formés.

### 3.4 Excrétion

La principale voie d'excrétion de l'oxyde de styrène et de ses métabolites chez l'animal est la voie rénale. Chez le lapin, 80% d'une dose d'exposition par voie orale ont été retrouvés dans l'urine (CIRC, 1994). Néanmoins, l'excrétion des acides mercapturiques de l'oxyde de styrène et des dérivés conjugués au glutathion (acides mercapturiques, mercaptoacétiques, mercaptolactiques et mercaptopyruviques) serait dépendante de l'espèce (CIRC, 1994).

La demi-vie d'élimination de l'oxyde de styrène *in vitro* dans le sang (30  $\mu$ M pendant 150 min, extraction par le n-hexane) a été estimée à  $0,70 \pm 0,03$  h chez 2 sujets humains (Rappaport *et al.*, 1993). Chez le rat, dans des conditions expérimentales similaires (30  $\mu$ M pendant 85 min, extraction par le n-hexane), elle est de  $0,36 \pm 0,02$  h (Rappaport *et al.*, 1993) et chez la souris de 3,4 min après injection intrapéritonéale de 200 mg/kg d'oxyde de styrène (Bidoli *et al.*, 1980). Chez des rats exposés par voie orale à une dose de 550 mg d'oxyde de styrène/kg p.c., le composé parent était encore détectable dans le sang 5 heures après exposition, mais à des niveaux traces ( $<0,1$   $\mu$ g/g). Les auteurs rapportent une possible saturation du processus d'élimination de l'oxyde de styrène (Langvardt and Nolan, 1991). Des niveaux détectables d'oxyde de styrène étaient aussi présents dans le tissu adipeux sous-cutané et le foie 5 h après injection intrapéritonéale de styrène chez la souris (Nordqvist *et al.*, 1983; Löf *et al.*, 1984).

Dans des expériences utilisant des foies de rats isolés et perfusés avec ajout au perfusat d'oxyde de styrène radiomarqué, 27-40% de la radioactivité étaient excrétés dans la bile sous forme d'un composé identifié comme étant du S-(1-phényl-2-hydroxyéthyl)glutathion, par comparaison avec un standard de référence. L'excrétion de métabolites par la voie biliaire augmentait avec l'accroissement des doses (de 10 à 100  $\mu$ mol) à l'exception de la dose la plus élevée (500  $\mu$ mol) où l'excrétion biliaire était diminuée, probablement suite aux dommages du système de transport biliaire (Ryan and Bend, 1977; Van Anda *et al.*, 1979). Steele *et al.* (1981) ont aussi étudié le métabolisme et l'excrétion des métabolites de l'oxyde de styrène conjugués au glutathion, chez des rats mais aussi par une technique d'isolement et perfusion de foies, poumons et reins de rats avec ajout au

perfusat d'oxyde de styrène conjugué au glutathion et radiomarqué. Les animaux intacts ont converti les conjugués de l'oxyde de styrène au glutathion presque entièrement en dérivés de l'oxyde de styrène-N-acétylcystéine (acides mercapturiques), avec de petites quantités de conjugués cystéine, cystéinyglycine et (conjugué inchangé) de glutathion. Seule une faible proportion de la radioactivité était retrouvée dans la bile (environ 5%) et les fèces (moins de 1%). Aux doses étudiées (25-30 µmol/rein), le rein perfusé isolé conservait sa capacité à convertir la quasi-totalité des conjugués du glutathion et la composante principale retrouvée dans l'urine à partir du rein isolé était constituée des conjugués à la cystéine.

Finalement, en comparant les métabolites urinaires suite à une exposition au styrène et à l'oxyde de styrène, les métabolites spécifiques à l'exposition au styrène sont le 4-vinylphénol, le 1-phényléthanol et le 2-phényléthanol alors que les métabolites urinaires communs sont l'acide hydroxyphényléthyl mercapturique, le monoglucuronide, l'acide mandélique, l'acide hippurique et l'acide phénylglyoxylique (Leibman, 1975).

Chez l'Homme, il semble n'y avoir aucune étude de l'excrétion urinaire d'acide mandélique et d'acide phénylglyoxylique suivant une exposition à l'oxyde de styrène. Cependant, les données disponibles suite à une exposition au styrène montrent que l'élimination de l'acide mandélique est biphasique avec une première phase dont la demi-vie est de 4 à 9 h et une phase terminale avec une demi-vie de 17 à 26 h. La demi-vie de l'acide phénylglyoxylique est de 8 à 10 h après exposition au styrène (ANSES, 2014). Lors d'une exposition au styrène, l'excrétion des acides mercapturiques est mineure par rapport à celles des acides mandélique et phénylglyoxylique ; cependant, il n'existe pas d'étude réalisée chez l'Homme permettant de quantifier les concentrations d'acides mercapturiques urinaires suite à une exposition à l'oxyde de styrène.

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

### **4.1 Indicateurs biologiques d'exposition disponibles**

Nom de l'indicateur biologique d'exposition	Matrice de prélèvement
Oxyde de styrène	Sang
Acide mandélique	Urine
Acide phénylglyoxylique	Urine
Acide 1-phényl-2-hydroxy-éthylmercapturique	Urine
Acide 2-phényl-2-hydroxy-éthylmercapturique	Urine
Adduits à l'hémoglobine	Sang
Adduits à l'albumine	Sang
Adduits à l'ADN	Sang

## 4.1.1 Informations générales

Nom	Oxyde de styrène sang	
Autres substances donnant naissance à cet indicateur biologique d'exposition	Styrène	
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires (avec les expositions et moments de prélèvement si disponibles)  Med (min-max)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Études de terrain :               <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Tornero-Velez et al., 2001</b> (N= 27)  <math>[[SO]_{atm} : 5,7 - 119 \text{ ppb} (28,1 - 585 \mu\text{g}/\text{m}^3) - (\text{coexposition au styrène} : 4,4 - 97 \text{ ppm})</math>  <math>[SO]_s : \approx 0,05 - 0,5 \mu\text{g}/\text{L FP}</math> (extraction immédiate par le n-pentane)  <math>\ln[SO]_s (\mu\text{g}/\text{L}) = -3,27 + 0,406 \ln[SO]_{atm} (\text{ppb}), r=0,62</math></li> <li><b>Serdar et al., 2006</b> (N=328)  <math>[SO]_{atm} : : 17,1 \text{ ppb} (&lt;1 - 138) - \text{Coexposition au styrène} : 9,14 \text{ ppm} (&lt;1-117 \text{ ppm}).</math>  <math>[SO]_s : 0,069 \mu\text{g}/\text{L} (&lt;0,05 - 0,393)</math></li> </ul> </li> <li>Études sur volontaires : NR</li> </ul>	
Facteur de conversion et poids moléculaire	PM : 120,15 $1 \mu\text{g}/\text{L} = 0,0083 \mu\text{mol}/\text{L}$ $1 \mu\text{mol}/\text{L} = 120,15 \mu\text{g}/\text{L}$	
Concentrations dans la population générale <sup>9</sup>	NR	
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	USA - ACGIH (BEI)	NR
	Allemagne - DFG (BAT)	NR
	Québec - IRSST (IBE)	NR
	Finlande - FIOH (BAL)	NR
	Autre(s) valeur(s) (Suisse, ...)	NR
$[SO]_{atm}$ : concentration atmosphérique d'oxyde de styrène ; $[SO]_s$ : concentration sanguine d'OS Med (médiane) – Min-Max (valeurs minimales et maximales) FP : fin de poste		

<sup>9</sup> ou à défaut dans une population de témoins non professionnellement exposés ; 95<sup>ème</sup> percentile ou à défaut la médiane ou la moyenne (nombre de personnes dans l'étude si l'information est disponible)

Nom	Acide mandélique urinaire	
Autres substances donnant naissance à cet indicateur biologique d'exposition	Styrène, éthylbenzène, styrène glycol, acide alpha-phénylaminoacétique	
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires (avec les expositions et moments de prélèvement si disponibles)  Med (min-max)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Études de terrain : <b>Fustinoni et al., 2008</b>, travailleurs des industries des vernis (N=13) et des plastiques renforcés (n=8) <i>Travailleurs des vernis (n=13)</i> : <ul style="list-style-type: none"> <li>[SO]<sub>atm</sub> : 12,2 (6,7-32,0) µg/m<sup>3</sup> (coexposition au styrène (Med : 3,4 mg/m<sup>3</sup>)) :</li> <li>[AM]<sub>u</sub> (DP) : 10,20 (2,58-31,81) mg/g créat</li> <li>[AM]<sub>u</sub> (FP) : 40,01 (7,95-130,71) mg/g créat</li> </ul> <i>Travailleurs des plastiques (n=8)</i> : <ul style="list-style-type: none"> <li>[SO]<sub>atm</sub> : 133,5 (39,5-281,5) µg/m<sup>3</sup> (coexposition au styrène (Med : 18,2 mg/m<sup>3</sup>)) :</li> <li>[AM]<sub>u</sub> (DP) : 32,29 (13,04-242,47) mg/g créat</li> <li>[AM]<sub>u</sub> (FP) : 148,13 (30,64-515,12) mg/g créat</li> </ul> </li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>Études sur volontaires : NR</li> </ul>	
Facteur de conversion (avec poids moléculaire)	PM : 152 1 µg/L = 0,0066 µmol/L 1 µmol/L = 152 µg/L 1 mg/g créatinine = 0,74 mmol/mol créatinine 1 mmol/mol créatinine = 1,35 mg/g créatinine	
Concentrations dans la population générale <sup>10</sup>  P95 : 95 <sup>ème</sup> percentile ou P97 : 97 <sup>ème</sup> percentile MG : Moyenne géométrique IC95 : Intervalle de confiance à 95%	<b>Manini et al., 2004</b> , population générale en Italie (N = 129) <ul style="list-style-type: none"> <li>P97 : 2,4 mg/g créat</li> <li>MG : 0,4 mg/g créat</li> </ul> <b>Fustinoni et al., 2008</b> : sujets contrôles (n=22 mécaniciens automobiles) (Med (min-max)) : <ul style="list-style-type: none"> <li>[SO]<sub>atm</sub> : &lt; LOD (&lt;5 µg/m<sup>3</sup>)</li> <li>[AM]<sub>u</sub> (DP) : 0,62 (0,18-1,34) mg/g créat</li> </ul> <b>CDC 2019 volume 1</b> NHANES (campagne 2013-2014), USA Classe d'âge ≥ 20 ans (n =1730-1731) : MG (IC95) : 115 (105-127) µg/L ou 134 (119-150) µg/g créat. P95 (IC95) : 547 (442-673) µg/L ou 451 (400-529) µg/g créat. <b>CDC 2019 Volume 2</b> NHANES (campagne 2013-2014), USA <i>Fumeurs</i> agés de plus de 20 ans (n=893) : MG (IC95) : 227 (199-258) µg/L ou 228 (196-266) µg/g créat. P95 : 978 (810-1220) µg/L ou 723 (536-955) µg.g créat. <i>Non fumeurs</i> de plus de 20 ans (n=1323) : MG (IC95) : 97,9 (88,9-108) µg/L ou 116 (103-131) µg/g créat. P95 (IC95) : 375 (340-408) µg/L ou 332 (274-449) µg/g créat.	
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	USA - ACGIH (BEI)	NR
	Allemagne - DFG (BAT)	NR
	Québec - IRSST (IBE)	NR
	Finlande - FIOH (BAL)	NR
	Autre(s) valeur(s) (Suisse, ...)	NR

[SO]<sub>atm</sub> : concentration atmosphérique d'OS ; [AM]<sub>u</sub> : concentration urinaire d'acide mandélique ; Med (médiane) – Min-Max (valeurs minimales et maximales) ; DP : début de poste ; FP : fin de poste

<sup>10</sup> ou à défaut dans une population de témoins non professionnellement exposés ; 95<sup>ème</sup> percentile ou à défaut la médiane ou la moyenne (nombre de personnes dans l'étude si l'information est disponible)

Nom	<b>Acide phénylglyoxylique urinaire</b>	
Autres substances donnant naissance à cet indicateur biologique d'exposition	Styrène, éthylbenzène, styrène glycol, méthylphényl cétone, acide alpha-phénylaminoacétique, acide phénacéturique, phénylglycol	
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires (avec les expositions et moments de prélèvement si disponibles)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Études de terrain :           <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Fustinoni et al., 2008</b>, travailleurs des industries des vernis (n=13) et des plastiques renforcés (n=8)               <ul style="list-style-type: none"> <li><i>Travailleurs des vernis (n=13)</i> (Med (min-max)) :                   <ul style="list-style-type: none"> <li>[SO]<sub>atm</sub> : 12,2 (6,7-32,0) µg/m<sup>3</sup> - coexposition au styrène (Med : 3,4 mg/m<sup>3</sup>)</li> <li>[AP]<sub>u</sub> : (DP) : 15,82 (4,00-38,87) mg/g créat</li> <li>[AP]<sub>u</sub> : (FP) : 24,02 (8,13-56,71) mg/g créat</li> </ul> </li> <li><i>Travailleurs des plastiques (n=8)</i> (Med (min-max)) :                   <ul style="list-style-type: none"> <li>[SO]<sub>atm</sub> : 133,5 (39,5-281,5) µg/m<sup>3</sup> - coexposition au styrène (Med : 18,2 mg/m<sup>3</sup>)</li> <li>[AP]<sub>u</sub> (DP) : 50,05 (17,26-240,31) mg/g créat</li> <li>[AP]<sub>u</sub> (FP) : 77,97 (20,89-248,99) mg/g créat</li> </ul> </li> </ul> </li> <li>Études sur volontaires : NR</li> </ul> </li></ul>	
Facteur de conversion (avec poids moléculaire)	PM : 150 1 µg/L = 0,0067 µmol/L 1 µmol/L = 150 µg/L 1 mg/g créatinine = 0,75 mmol/mol créatinine 1 mmol/mol créatinine = 1,33 mg/g créatinine	
Concentrations dans la population générale <sup>11</sup>	<p><b>Manini et al., 2004</b>, population générale en Italie (n = 129)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- P97 : 1,3 mg/g créat</li> <li>- MG : 0,11 mg/g créat</li> </ul> <p><b>Fustinoni et al., 2008</b> : sujets contrôles (n=22 mécaniciens automobiles) :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- [SO]<sub>atm</sub> : &lt; LOD (&lt;5 µg/m<sup>3</sup>)</li> <li>- [AP]<sub>u</sub> DP : 0,52 (0,26-1,57) mg/g créat</li> </ul> <p><b>CDC 2019 volume 1</b>            NHANES (campagne 2013-2014), USA            Classe d'âge ≥ 20 ans (n =1742-1743) :</p> <p>MG (IC95) : 169 (154-186) µg/L ou 196 (177-218) µg/g créat.            P95 (IC 95) : 688 (617-798) µg/L ou 583 (517-707) µg/g créat.</p> <p><b>CDC 2019 Volume 2</b>            NHANES (campagne 2013-2014), USA  <i>Fumeurs</i> agés de plus de 20 ans (n=891) :</p> <p>MG (IC95) : 304 (273-339) µg/L ou 307 (268-353) µg/g créat.            P95 (IC95) : 1130 (939-1450) µg/L ou 833 (683-958) µg/g créat.  <i>Non fumeurs</i> de plus de 20 ans (n=1336-1337) :</p> <p>MG (IC95) : 147 (135-161) µg/L ou 175 (158-194) µg/g créat.            P95 (IC95) : 555 (465-614) µg/L ou 438 (376-595) µg/g créat.</p>	
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	USA - ACGIH (BEI)	NR
	Allemagne - DFG (BAT)	NR
	Québec - IRSST (IBE)	NR
	Finlande - FIOH (BAL)	NR
	Autre(s) valeur(s) (Suisse, ...)	NR

[SO]<sub>atm</sub> : concentration atmosphérique d'OS ; [AP]<sub>u</sub> : concentration urinaire d'acide phénylglyoxylique ; Med (médiane) – Min-Max (valeurs minimales et maximales) ; DP : début de poste ; FP : fin de poste ; P95 (95<sup>ème</sup> percentile) ou P97 (97<sup>ème</sup> percentile) ; MG (Moyenne géométrique) ; IC95 (intervalle de confiance à 95%)

<sup>11</sup> ou à défaut dans une population de témoins non professionnellement exposés ; 95<sup>ème</sup> percentile ou à défaut la médiane ou la moyenne (nombre de personnes dans l'étude si l'information est disponible)

Nom	<b>Acides mercapturiques : acide 1-phényl-2-hydroxy-éthylmercapturique urinaire (MA1) et acide 2-phényl-2-hydroxy-éthylmercapturique (MA2)</b>	
Autres substances donnant naissance à cet indicateur biologique d'exposition	Styrène	
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires (avec les expositions et moments de prélèvement si disponibles)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Études de terrain : <b>Fustinoni et al., 2008</b>, travailleurs des industries des vernis (n=13) et des plastiques renforcés (n=8)* Travailleurs des vernis (n=13) (Med (min-max)): - [SO]<sub>atm</sub> : 12,2 (6,7-32,0) µg/m<sup>3</sup> (coexposition au styrène (Med : 3,4 mg/m<sup>3</sup>)) - [MA1]<sub>u</sub>+[MA2]<sub>u</sub> (DP) : 0,0937 (&lt;0,0016-0,3878) mg/g créat - [MA1]<sub>u</sub>+[MA2]<sub>u</sub> (FP) : 0,2059 (0,0032-0,5594) mg/g créat Travailleurs des plastiques (n=8) (Med (min-max)) : - [SO]<sub>atm</sub> : 133,5 (39,5-281,5) µg/m<sup>3</sup> (coexposition au styrène (Med : 18,2 mg/m<sup>3</sup>)) : - [MA1]<sub>u</sub>+[MA2]<sub>u</sub> (DP) : 0,1051 (0,0029-0,6528) mg/g créat - [MA1]<sub>u</sub>+[MA2]<sub>u</sub> (FP) : 0,2619 (0,0394-3,4641) mg/g créat</li> <li>Études sur volontaires : NR</li> </ul>	
Facteur de conversion (avec poids moléculaire)	PM : 325 1 µg/L = 0,0031 µmol/L 1 µmol/L = 325 µg/L	
Concentrations dans la population générale <sup>12</sup>	<p><b>Fustinoni et al., 2008</b> : sujets contrôles (n=22 mécaniciens automobiles) (Med (min-max)) :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>[SO]<sub>atm</sub> : &lt; LOD (&lt;5 µg/m<sup>3</sup>)</li> <li>[MA1]<sub>u</sub>+[MA2]<sub>u</sub> (DP) : &lt;0,0016 (&lt;0,0016-0,0080) mg/g créat</li> </ul> <p><b>CDC 2019 volume 1</b> NHANES (campagne 2013-2014), USA Classe d'âge ≥ 20 ans (n =1748-1749) [AM1]<sub>u</sub> : MG (IC95) : ** P95 (IC95) : 3,18 (2,71-3,56) µg/L ou 3,54 (3,02-3,84) µg/g créat.</p> <p><b>CDC 2019 Volume 2</b> NHANES (campagne 2013-2014), USA : analyse selon le statut tabagique. [AM1]<sub>u</sub> <i>Fumeurs</i> de plus de 20 ans (n=891-892) : MG (IC95) : 1,26 (1,13-1,40) µg/L ou 1,27 (1,15-1,41) µg/g créat. P95 (IC95) : 5,86 (5,01-7,45) µg/L ou 4,26 (3,67-5,73) µg/g créat. <i>Non fumeurs</i> de plus de 20 ans (n=1340-1341) : MG (IC95) : ** P95 (IC95) : 2,05 (1,83-2,42) µg/L ou 2,97 (2,67-3,81) µg/g créat.</p>	
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	USA - ACGIH (BEI)	NR
	Allemagne - DFG (BAT)	NR
	Québec - IRSST (IBE)	NR
	Finlande - FIOH (BAL)	NR
	Autre(s) valeur(s) (Suisse, ...)	NR

SO]<sub>atm</sub> : concentration atmosphérique d'OS ; [AM1]<sub>u</sub> et [AM2]<sub>u</sub> : concentrations urinaires d'acide mercapturiques ; Med (médiane) ; Min-Max (valeurs minimales et maximales) ; DP : début de poste ; FP : fin de poste ; Med (médiane) Min-Max (valeurs minimales et maximales) ; P95 (95<sup>ème</sup> percentile) ; MG (Moyenne géométrique) ; IC95 (intervalle de confiance à 95%)

\* les auteurs rapportent les résultats de concentrations pour : MA1+MA2, (S,R)-MA1, (R,R)-MA1, (S,R)-MA1, (R,R)-MA2.

\*\* Non calculé car la proportion de résultats en dessous de la LOD était trop élevée

<sup>12</sup> ou à défaut dans une population de témoins non professionnellement exposés ; 95<sup>ème</sup> percentile ou à défaut la médiane ou la moyenne (nombre de personnes dans l'étude si l'information est disponible)



Nom	Adduits à l'albumine	
Autres substances donnant naissance à cet indicateur biologique d'exposition	Styrène	
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires (avec les expositions et moments de prélèvement si disponibles)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Études de terrain :           <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Rappaport et al. (1996) et Yeowell-O'Connell et al. (1996)</b> (N=20) Moy (<math>\pm</math> SE) : [SO]<sub>atm</sub> : 159 <math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math> (<math>\pm</math> 25,0) (de 13,4 à 525 <math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math>) - Coexposition au styrène (Moy : 64,3 <math>\text{mg}/\text{m}^3</math>)</li> <li>- Oxyde de styrène-albumine (1-PE) 0,290 <math>\pm</math> 0,038 nmol/g protéine (n=48)</li> <li>- Oxyde de styrène-albumine (2-PE) 1,68 <math>\pm</math> 0,116 nmol/g protéine (n=48)</li> <li>- Oxyde de styrène-albumine (SG) 1,80 <math>\pm</math> 0,191 nmol/g protéine (n=48)</li> </ul> </li> <li><b>Fustinoni et al., 2008</b>, travailleurs des industries des vernis (n=13) et des plastiques renforcés (N=8) <i>Travailleurs des vernis (N=13)</i> (Med (min-max)): [SO]<sub>atm</sub> : 12,2 (6,7-32,0) <math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math> - coexposition au styrène : 3,4 <math>\text{mg}/\text{m}^3</math> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Adduits albumine 1-PE (DP) : 0,48 (0,21-0,75) nmol/g protéine</li> <li>- Adduits albumine 2-PE (DP) : 6,18 (2,66-9,53) nmol/g protéine</li> </ul> </li> <li><i>Travailleurs des plastiques (N=8)</i> (Med (min-max)) : [SO]<sub>atm</sub> : 133,5 (39,5-281,5) <math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math> - Coexposition au styrène (Med : 18,2 <math>\text{mg}/\text{m}^3</math>)           <ul style="list-style-type: none"> <li>- Adduits albumine 1-PE (DP) : 0,23 (&lt;0,03-1,22) nmol/g protéine</li> <li>- Adduits albumine 2-PE (DP) : 5,91 (4,40-8,14) nmol/g protéine</li> </ul> </li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>Études sur volontaires : NR</li> </ul>	
Facteur de conversion (avec poids moléculaire)	NR	
Concentrations dans la population générale <sup>13</sup>	<b>Fustinoni et al., 2008</b> Sujets contrôles (n=22 mécaniciens automobiles) (Med (min-max)): <ul style="list-style-type: none"> <li>- [SO]<sub>atm</sub> : [SO]<sub>atm</sub> : &lt; LOD (&lt;5 <math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math>)</li> <li>- Adduits albumine 1-PE (DP) : 0,19 (&lt;0,03-0,53) nmol/g protéine</li> <li>- Adduits albumine 2-PE (DP) : 3,57 (&lt;0,90-5,18) nmol/g protéine</li> </ul>	
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	USA - ACGIH (BEI)	NR
	Allemagne - DFG (BAT)	NR
	Québec - IRSST (IBE)	NR
	Finlande - FIOH (BAL)	NR
	Autre(s) valeur(s) (Suisse, ...)	NR

[SO]<sub>atm</sub> : concentration atmosphérique d'OS ; PE : *acide phenyl hydroxyethylmercapturique*, ; SG : *styrène glycol*  
Moy : moyenne ; Med : médiane ; Min-Max valeurs minimales et maximales ; SE : standard Error ; DP : début de poste

<sup>13</sup> ou à défaut dans une population de témoins non professionnellement exposés ; 95<sup>ème</sup> percentile ou à défaut la médiane ou la moyenne (nombre de personnes dans l'étude si l'information est disponible)

Nom	Adduits à l'hémoglobine	
Autres substances donnant naissance à cet indicateur biologique d'exposition	Styrène	
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires (avec les expositions et moments de prélèvement si disponibles)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Études de terrain :</b> <b>Yeowell-O'Connell et al., 1996</b> Moy (<math>\pm</math> SE) [SO]<sub>atm</sub>: 159 <math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math> (<math>\pm</math> 25,0) de 13,4 à 525 <math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math> - Coexposition au styrène (Moy : 64,3 <math>\text{mg}/\text{m}^3</math>) (n=20) Oxyde de styrène-Hb (1-PE) 0,084 <math>\pm</math> 0,014 nmol/g protéine (n=40) Oxyde de styrène-Hb (2-PE) 0,078 <math>\pm</math> 0,003 nmol/g protéine (n=48) Oxyde de styrène-Hb (SG) 0,481 <math>\pm</math> 0,132 nmol/g protéine (n=41)</li> <li><b>Fustinoni et al., 2008</b>, travailleurs des industries des vernis (n=13) et des plastiques renforcés (n=8) <i>Travailleurs des vernis (n=13) (Med (min-max)) :</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>- [SO]<sub>atm</sub> : : 12,2 (6,7-32,0) <math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math> - coexposition au styrène (Med : 3,4 <math>\text{mg}/\text{m}^3</math>)</li> <li>- Adduits hémoglobine 1-PE (DP) : 0,11 (&lt;0,030-0,55) nmol/g protéine</li> <li>- Adduits hémoglobine 2-PE (DP) : 2,80 (&lt;0,60-4,48) nmol/g protéine</li> </ul> </li> <li><i>Travailleurs des plastiques (n=8) (Med (min-max)):</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>- [SO]<sub>atm</sub> : 133,5 (39,5-281,5) <math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math> (coexposition au styrène (Med : 18,2 <math>\text{mg}/\text{m}^3</math>))</li> <li>- Adduits hémoglobine 1-PE (DP) : 0,20 (&lt;0,03-0,74) nmol/g protéine</li> <li>- Adduits hémoglobine 2-PE (DP): 2,31 (2,18-5,12) nmol/g protéine</li> </ul> </li> </ul>	
[SO] <sub>atm</sub> : concentration atmosphérique d'OS Moy : moyenne Med : médiane Min-Max : valeurs minimales et maximales SE : standard Error DP : début de poste		
Facteur de conversion (avec poids moléculaire)	NR	
Concentrations dans la population générale <sup>14</sup>	<b>Fustinoni et al., 2008</b> Sujets contrôles (n=22 mécaniciens automobiles) : (Med (min-max)): <ul style="list-style-type: none"> <li>- [SO]<sub>atm</sub> : [SO]<sub>atm</sub> : &lt; LOD (&lt;5 <math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math>)</li> <li>- Adduits hémoglobine 1-PE : 0,22 (&lt;0,03-0,99) nmol/g protéine</li> <li>- Adduits hémoglobine 2-PE : 1,96 (1,01-3,33) nmol/g protéine</li> </ul>	
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	USA - ACGIH (BEI)	NR
	Allemagne - DFG (BAT)	NR
	Québec - IRSST (IBE)	NR
	Finlande - FIOH (BAL)	NR
	Autre(s) valeur(s) (Suisse, ...)	NR

[SO]<sub>atm</sub>: concentration atmosphérique d'OS ; Moy : moyenne ; Med : médiane ; Min-Max : valeurs minimales et maximales ; SE : standard Error ; DP : début de poste

<sup>14</sup> ou à défaut dans une population de témoins non professionnellement exposés ; 95<sup>ème</sup> percentile ou à défaut la médiane ou la moyenne (nombre de personnes dans l'étude si l'information est disponible)

Nom	Adduits à l'ADN	
Autres substances donnant naissance à cet indicateur biologique d'exposition	Styrène	
Concentrations retrouvées chez des professionnels exposés ou des volontaires (avec les expositions et moments de prélèvement si disponibles)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Études de terrain : Rappaport <i>et al.</i>, 1996 [SO]<sub>atm</sub> (Moy (± SE)) : 159 µg/m<sup>3</sup> (± 25,0) de 13,4 à 525 µg/m<sup>3</sup> (coexposition au styrène : Moy : 64,3 mg/m<sup>3</sup>) (n=20) Oxyde de styrène-ADN(1)<sup>1</sup> 15,8 ± 3,22 RAL x 10<sup>8</sup> (n=47) Oxyde de styrène-ADN(2)<sup>2</sup> 14,2 ± 2,30 RAL x 10<sup>8</sup> (n=47)</li> <li>Études sur volontaires : NR</li> </ul> <p>1. Identifié comme étant du N2-(2-hydroxy-1-phényléthyl)-2'-déoxyguanosine 3,5-biphosphate 2. Non identifié</p>	
Facteur de conversion (avec poids moléculaire)	NR	
Concentrations dans la population générale <sup>12</sup>	NR	
Valeurs limites recommandées pour les professionnels exposés	USA - ACGIH (BEI)	NR
	Allemagne - DFG (BAT)	NR
	Québec - IRSST (IBE)	NR
	Finlande - FIOH (BAL)	NR
	Autre(s) valeur(s) (Suisse, ...)	NR

[SO]<sub>atm</sub> : concentration atmosphérique d'OS ; Moy : moyenne ; SE : standard Error ; RAL : *Relative Adduct Level* (niveau d'adduit relatif)

#### 4.1.2 Avantages et limites des indicateurs biologiques d'exposition

Aucune étude chez l'Homme portant sur une mesure des niveaux d'indicateurs biologiques d'exposition suite à une exposition uniquement à l'oxyde de styrène n'a été identifiée. L'exposition professionnelle concomitante au styrène et à l'oxyde de styrène est habituelle comme le montrent les études de terrain de Rappaport *et al.* (1996), de Yeowell-O'Connell *et al.* (1996), de Tornero-Velez *et al.* (2001) et de Fustinoni *et al.* (2008).

##### Oxyde de styrène sanguin

Il n'est pas possible d'identifier dans quelle proportion l'oxyde de styrène sanguin provient de l'exposition au styrène ou à l'oxyde de styrène. De plus, puisque la vitesse de biotransformation de l'oxyde de styrène semble être relativement rapide (la demi-vie sanguine étant de l'ordre de 0,7 h (Rappaport *et al.*, 1993)), les analyses des concentrations sanguines du produit mère ne reflètent que l'exposition ayant précédé immédiatement la prise de sang.

##### Acides mandélique et phénylglyoxylique urinaires

Tout comme dans le rapport d'expertise de l'ANSES sur la détermination d'un IBE pour le styrène (ANSES, 2014), les acides mandélique et phénylglyoxylique, individuellement ou combinés, semblent être intéressants pour évaluer l'exposition au styrène ou à ses sous-produits. En effet, il s'agit des métabolites principalement retrouvés dans les urines après exposition à l'oxyde de styrène. La difficulté rencontrée est de déterminer les quantités urinaires de métabolites provenant de l'exposition à l'oxyde de styrène lors de la présence concomitante de styrène ou d'autres substances qui génèrent ces métabolites. Cependant, dans ces études, les concentrations d'oxyde

de styrène dans l'air étaient beaucoup plus faibles (500 à 1000 fois) que celles du styrène, ce qui laisse supposer que la fraction des métabolites issue de l'exposition à l'oxyde de styrène chez les travailleurs était moindre que celle due à l'exposition au styrène. Dans le cas d'un milieu où l'exposition serait exclusivement due à l'oxyde de styrène et sous condition d'un suivi des concentrations dans l'air de l'oxyde de styrène et des autres contaminants potentiels, il serait possible d'utiliser cet IBE à des fins de suivi de l'exposition chez les travailleurs.

Tout comme pour le styrène, l'élimination des acides mandélique et phénylglyoxylique résultant d'une exposition à l'oxyde de styrène est susceptible d'être inhibée par une exposition concomitante à l'alcool ou à tout autre substrat des systèmes enzymatiques impliqués. En effet, il pourrait y avoir un retard de l'élimination de l'acide mandélique causé par la présence d'éthanol et une compétition métabolique au niveau des systèmes enzymatiques alcool déshydrogénase et aldéhyde déshydrogénase. Suite à une exposition au styrène, l'élimination urinaire de l'acide mandélique est biphasique avec une première phase dont la demi-vie est de 4 à 9 h et une phase terminale avec une demi-vie de 17 à 26 h. La demi-vie de l'acide phénylglyoxylique est de 8 à 10 h (ANSES, 2014).

L'acide phénylglyoxylique est instable et a tendance à reformer de l'acide mandélique. L'addition des deux acides est donc recommandée comme IBE afin d'évaluer l'exposition au styrène. 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. Pour l'acide phénylglyoxylique, il est recommandé d'effectuer l'analyse immédiatement ou de conserver les échantillons à -20°C jusqu'à l'analyse.

L'étude de Fustinoni *et al.* (2008) a mesuré les métabolites urinaires (acide mandélique, acide phénylglyoxylique, acides mercapturiques, phénylglycine et 4-vinylphénol (métabolite du styrène uniquement)) chez des travailleurs exposés par inhalation au styrène et à l'oxyde de styrène. Une corrélation a été observée entre les niveaux urinaires des métabolites et les concentrations dans l'air du styrène. Après ajustement pour les concentrations de styrène, seule une corrélation entre les niveaux de phénylglycine et les concentrations dans l'air d'oxyde de styrène est rapportée ( $p < 0,05$ ). Cependant, les auteurs mentionnent qu'il n'y a pas d'explication plausible pour cette observation de corrélation puisqu'il n'y a aucun lien direct (métabolisme) entre l'oxyde de styrène et la phénylglycine. Selon les auteurs, cette constatation nécessite davantage de preuves sur l'intérêt potentiel de la phénylglycine avant de servir à des fins de biosurveillance.

### Acides mercapturiques urinaires

Lors d'une exposition au styrène, ces métabolites représentent environ 1% de la dose administrée. Les études de Linhart *et al.* (1998) et de Linhart *et al.* (2000) chez l'animal suggèrent que les acides mercapturiques N-acétyl-S-(1-phényl-2-hydroxyéthyl)cystéine (MA1) et N-acétyl-S-(2-phényl-2-hydroxyéthyl)cystéine (MA2) sont produits en proportions différentes selon que l'exposition est au styrène ou à l'oxyde de styrène. En effet, il a été montré que le styrène a tendance à se transformer davantage en (S)-oxyde de styrène. Or, le S-oxyde de styrène produit du (R,R)-MA1 et du (S,R)-MA2 tandis que le (R)-oxyde de styrène produit du (S,R)-MA1 et du (R,R)-MA2. Ceci peut donc entraîner une variation des ratios de MA1 et MA2 selon la nature de l'exposition (styrène ou oxyde de styrène comportant davantage d'énantiomère R). Chez le rat, une exposition au styrène a produit un ratio de 15 :85 de MA1 et MA2, respectivement (Linhart *et al.*, 1998). Dans le cas d'une exposition à l'oxyde de styrène, il y aurait possibilité de différencier cette exposition de celle du styrène. Toutefois, il n'y a aucune étude chez l'Homme qui peut appuyer ce fait et il n'est pas possible de tirer de conclusion sur l'utilité de cet IBE.

De plus, le rôle du polymorphisme enzymatique dans la variabilité interindividuelle des niveaux d'acides mercapturiques a été étudié chez 56 travailleurs exposés au styrène (De Palma *et al.*, 2001). Ces acides ne peuvent pas être recommandés comme biomarqueurs de l'exposition au styrène, à moins que le génotype GSTM1 soit pris en compte dans l'interprétation des données (Haufroid *et al.*, 2002). Il est également probable que cette conclusion puisse s'appliquer pour l'exposition à l'oxyde de styrène.

## Adduits à l'hémoglobine, à l'albumine et aux acides aminés

La production d'adduits à l'hémoglobine et à l'albumine, suite à une exposition à l'oxyde de styrène, a été démontrée dans des études chez l'animal (CIRC, 1994; Osterman-Golkar *et al.*, 1992). Plusieurs études en milieu de travail ont aussi montré la présence d'adduits à l'hémoglobine et à l'albumine suite à une exposition concomitante au styrène et à l'oxyde de styrène chez les travailleurs (Rappaport *et al.*, 1996; Yeowell-O'Connell *et al.*, 1996, Fustinoni *et al.* 1998 et 2008). Cependant, ces études n'ont pas montré d'association entre l'exposition à l'oxyde de styrène et l'augmentation des adduits à l'hémoglobine. De plus, la production d'adduits à l'hémoglobine semble être modulée par le polymorphisme génétique de l'activité enzymatique de l'époxyde hydrolase chez les travailleurs exposés (Teixeira *et al.*, 2007). Ceci indique que les adduits à l'hémoglobine sont de moindre intérêt comme IBE à moins de considérer ce polymorphisme.

La production d'adduits à l'albumine serait plus intéressante comme IBE car dans deux publications (Rappaport *et al.*, 1996; Yeowell-O'Connell *et al.*, 1996), les coefficients de corrélation des adduits à l'albumine avec les concentrations dans l'air d'oxyde de styrène sont plus importants qu'avec celles du styrène. Ces corrélations ne sont significatives que pour un des 3 adduits mesurés (oxyde de styrène-albumine (2-PE),  $r = 0,559$ ,  $p = 0,01$ ,). Cependant, la significativité de la corrélation pourrait ne résulter que de certaines valeurs extrêmes.

De même, l'étude de Fustinoni *et al.* (2008) n'a pas trouvé de corrélation entre les niveaux d'adduits à l'albumine et les niveaux atmosphériques de styrène ou d'oxyde de styrène bien que les niveaux d'adduits à l'albumine étaient significativement plus élevés chez les sujets exposés que chez les témoins. Ceci pouvait être expliqué par le faible effectif (21 travailleurs), l'exposition plus faible et par le bruit de fond élevé dans les niveaux d'adduits mesurés chez les témoins.

Pour des niveaux d'exposition à l'oxyde de styrène similaires, les adduits d'oxyde de styrène à l'albumine sont généralement plus élevés chez les fumeurs que chez les non fumeurs. Les auteurs suggèrent que la fumée de tabac pourrait contenir de l'oxyde de styrène ou que cela pourrait être expliqué par une différence de métabolisme entre les fumeurs et non fumeurs, en particulier la déplétion des époxydes hydrolases (Rappaport *et al.*, 1996). De plus, le métabolisme de l'oxyde de styrène semble varier selon la dose ou l'exposition répétée. En effet, à plus fortes doses, il semble y avoir une augmentation disproportionnée des liaisons de l'oxyde de styrène aux protéines (CIRC, 1994; Osterman-Golkar *et al.*, 1992) qui serait due à la saturation du processus de détoxification de l'oxyde de styrène par la formation de styrène glycol à l'aide de l'époxyde hydrolase à dose élevée. Cependant, cette dernière observation provient seulement d'une expérience animale.

Rappaport *et al.* (1993) ont montré une réactivité 13 fois plus élevée de l'oxyde de styrène avec l'albumine qu'avec l'hémoglobine humaine. Osterman-Golkar *et al.* (1995) ont mentionné que cette différence était principalement attribuable à la forte réactivité de la cystéine 34 de l'albumine sérique. Chez l'Homme, l'albumine sérique a une demi-vie d'environ 20 jours ; à condition que les adduits soient stables au cours de cette période de temps, les adduits à cette protéine pourraient être utiles pour la biosurveillance (Osterman-Golkar *et al.*, 1995). Dans ce contexte, les adduits à l'albumine possèdent un excellent potentiel comme IBE car ils peuvent refléter l'exposition du travailleur sur une plus longue période que les métabolites urinaires. Toutefois, le niveau élevé de bruit de fond dans la population générale et l'effet du tabagisme en limite leur intérêt (Yeowell-O'Connell *et al.*, 1996 ; Fustinoni *et al.*, 2008).

## Adduits à l'ADN

La formation d'adduits à l'ADN par l'oxyde de styrène a été démontrée (CIRC, 1994 ; 2019; Vodicka *et al.*, 2001; Otteneder *et al.*, 2002; Vodicka *et al.*, 2003; Vodicka *et al.*, 2006). Cependant, ces études ont été réalisées dans le contexte d'une exposition au styrène. Seule l'étude de Rappaport *et al.* (1996) mentionne la production d'adduits à l'ADN chez des travailleurs exposés au styrène et

à l'oxyde de styrène simultanément. De plus, le tabagisme a montré une augmentation des taux d'adduits d'oxyde de styrène à l'ADN (Rappaport *et al.*, 1996).

**Tableau 3 : Tableau synthétique des avantages et des inconvénients pour chaque IBE**

Analyte	Matrice	Avantages	Inconvénients
Oxyde de styrène	sang	Méthodes d'analyses validées	Non spécifique Peu de données de corrélation avec l'exposition (1 étude, n=27, coexposition au styrène) Demi-vie de l'ordre de 0,7 h (Rappaport <i>et al.</i> , 1993) Grande réactivité de l'oxyde de styrène dans le sang
Acide mandélique	Urine	Prélèvements non invasifs	Non spécifique Corrélation et données hypothétiques déduites de l'exposition au styrène
Acide Phénylglyoxylique	Urine	Prélèvements non invasifs	Non spécifique Corrélation et données hypothétiques déduites de l'exposition au styrène
Acide 1-phényl-2-hydroxy-éthylmercapturique	Urine	Prélèvements non invasifs	Non spécifique Mauvaise corrélation avec l'exposition (manque de données)
Acide 2-phényl-2-hydroxy-éthylmercapturique	Urine	Prélèvements non invasifs	Non spécifique Mauvaise corrélation avec l'exposition (manque de données)
Adduits à l'hémoglobine	Sang	Intégration de l'exposition sur plusieurs jours	Non spécifique Absence de corrélation avec l'exposition
Adduits à l'albumine	Sang	Corrélation avec les concentrations atmosphériques dans certaines études Intégration de l'exposition sur plusieurs jours	Non spécifique Bruit de fond élevé Influence du tabagisme
Adduits à l'ADN	Sang	Corrélation avec les concentrations atmosphériques Intégration de l'exposition sur plusieurs jours	Non spécifique Influence du tabagisme

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

Pour l'oxyde de styrène, plusieurs IBE seraient théoriquement disponibles. Cependant, aucune étude n'a clairement montré une relation directe entre une dose ou concentration d'exposition à l'oxyde de styrène seul en milieu professionnel et une quantité ou une concentration d'un IBE. Le choix d'un IBE se base donc sur des hypothèses. Il est important de relativiser les conclusions sur le choix de l'IBE et les valeurs biologiques qui en découlent. L'oxyde de styrène est le principal métabolite du styrène et une exposition au styrène produit principalement les mêmes métabolites que ceux de l'oxyde de styrène. Ceci implique que les valeurs observées des IBE sont difficilement interprétables dans le cas d'une exposition concomitante au styrène et à l'oxyde de styrène.

Parmi les IBE possibles, notons ce qui suit :

- l'oxyde de styrène sanguin semblerait être un bon choix dans le cas où l'on voudrait évaluer l'exposition très récente. Toutefois, sa demi-vie sanguine très courte de 0,7 h (Rappaport *et al.*, 1993) et sa grande réactivité avec les éléments du sang limitent la mise en application de cet IBE. **Cet IBE est identifié comme pertinent pour le suivi biologique de l'exposition à l'oxyde de styrène ;**
- dans la production de plastiques renforcés, une corrélation a été mise en évidence entre l'exposition à l'oxyde de styrène et les adduits à l'albumine mais pas les adduits à l'hémoglobine. Bien que cette corrélation n'ait pas été retrouvée dans une autre étude où les expositions étaient plus faibles, probablement du fait d'un faible nombre de sujets et d'un bruit de fond élevé. **Cet IBE est identifié comme pertinent pour le suivi biologique de l'exposition à l'oxyde de styrène ;**
- des adduits de l'oxyde de styrène à l'ADN ont été rapportés dans des études chez des travailleurs et une corrélation entre l'exposition au produit et la formation d'adduits a été observée. Bien que cette corrélation n'ait pas été retrouvée dans une autre étude où les expositions étaient plus faibles, probablement du fait d'un faible nombre de sujets et d'un bruit de fond élevé, **cet IBE est identifié comme pertinent pour le suivi biologique de l'exposition à l'oxyde de styrène.**

**L'oxyde de styrène sanguin, les adduits à l'albumine et les adduits à l'ADN** pourraient donc *a priori* être utilisés comme IBE pour des expositions exclusives à l'oxyde de styrène (sans exposition concomitante au styrène).

## 4.3 Indicateurs biologiques d'effets disponibles

Une corrélation entre le niveau d'échanges de chromatides sœurs et l'exposition a été observée dans l'étude de Rappaport *et al.* (1996) chez des travailleurs exposés simultanément au styrène et à l'oxyde de styrène. Il serait donc envisageable de considérer ce biomarqueur comme indicateur biologique d'effet. Cependant, les échanges de chromatides sœurs peuvent également être le reflet d'une exposition à plusieurs autres xénobiotiques. Cet indicateur biologique d'effet n'est donc pas spécifique. Ainsi, aucun des effets décrits ne permet de proposer des indicateurs biologiques d'effets fiables.

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

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

Aucune donnée chez l'Homme ne permet de relier des concentrations pour les IBE retenus à des données de cancérogénicité ni à d'autres effets sanitaires.

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

#### Etudes de terrain

Les études en milieu professionnel concernant l'exposition à l'oxyde de styrène sont rares. L'étude de Tornero-Velez *et al.* (2001) a documenté les concentrations d'oxyde de styrène sanguin en fonction de l'exposition à l'oxyde de styrène alors que, les études de Rappaport *et al.* (1996) et Yeowell-O'Connell *et al.* (1996) et Fustinoni *et al.* (1998, 2008) menées sur le même groupe de travailleurs, ont mesuré les niveaux d'adduits (hémoglobine, albumine et ADN) pour différents niveaux d'exposition à l'oxyde de styrène. Une limite importante de l'ensemble de ces études est la coexposition avec le styrène à des niveaux 500 à 1000 fois plus élevés (Fustinoni *et al.* 1998 et 2008).

#### **Oxyde de styrène sanguin**

L'étude de Tornero-Velez *et al.* (2001) porte sur 35 travailleurs de l'industrie du plastique renforcé, dont 27 ayant un niveau d'oxyde de styrène sanguin supérieur à la limite de détection (0,05 µg/L). Le sang était prélevé immédiatement à la fin du quart de travail et l'échantillon était traité immédiatement au n-pentane considérant l'importante réactivité chimique de l'oxyde de styrène avec les éléments sanguins (notamment les nucléophiles). Pour les 27 sujets dont l'oxyde de styrène sanguin était détectable, les concentrations étaient corrélées aux concentrations atmosphériques d'oxyde de styrène, variant de 5,7 à 119 ppb, selon l'équation  $\ln[\text{blood-SO} (\mu\text{g/L})] = -3,27 + 0,406 \ln[\text{SO} (\text{ppb})]$ ,  $r=0,62$ . Dans cette étude, la coexposition avec le styrène se traduisait par une association entre les concentrations atmosphériques de styrène et les concentrations sanguines d'oxyde de styrène ( $\ln[\text{blood-SO} (\mu\text{g/L})] = -3,23 + 0,415 \ln[\text{styrene} (\text{ppm})]$ ) ( $r=0,73$ ). De plus, l'équation de régression ayant été déterminée à partir de concentrations atmosphériques d'oxyde de styrène variant de 5,7 à 119 ppb, il pourrait être inapproprié d'utiliser cette relation à l'extérieur de l'étendue de concentrations étant donné qu'elle n'a pas été validée pour d'autres domaines de concentrations. Également, compte tenu de la courte demi-vie de l'oxyde de styrène sanguin, la validité de l'équation de régression proposée n'est assurée que pour un moment de prélèvement identique à celui de l'étude. Cet IBE ne reflète qu'une exposition quasi instantanée des dernières minutes.

Toutefois, compte tenu de la très courte demi-vie de cet IBE, la mesure traduirait au mieux l'exposition des dernières minutes et, en ce sens, présente peu d'intérêt. L'absence de VLEP ainsi que la coexposition au styrène limite grandement l'utilisation de cette étude pour dériver une valeur biologique. Cependant, à l'aide de l'équation de régression proposée, il est possible de déterminer



qu'une concentration d'oxyde de styrène atmosphérique de 1 ppm tel que proposé dans le document 'Notice of intended change' de l'ACGIH de 2019 (ACGIH, 2019) conduirait à une concentration sanguine de 0,63 µg/L.

### Adduits à l'albumine

Les études de Rappaport *et al.* (1996) et de Yeowell-O'Connell *et al.* (1996) ont permis d'observer une corrélation entre l'exposition à l'oxyde de styrène et les niveaux d'adduits de l'oxyde de styrène à l'albumine. Les concentrations atmosphériques étaient de 13,4 à 525 µg/m<sup>3</sup> avec une moyenne de 159 µg/m<sup>3</sup> (n=20). Les niveaux d'adduits de l'oxyde de styrène à l'albumine (moyenne ± SD) étaient de 0,290 ± 0,038 nmol/g protéine (1-PE ; n=48), 1,68 ± 0,116 nmol/g protéine (2-PE ; n=48), 1,80 ± 0,191 nmol/g protéine (SG ; n=48). Les équations de corrélation n'étant pas rapportées par les auteurs, il n'est pas possible d'utiliser ces études pour déterminer une VLB d'adduits à l'albumine.

### Adduits à l'ADN

Rappaport *et al.* (1996) ont observé une corrélation entre l'exposition à l'oxyde de styrène et les niveaux d'adduits de l'oxyde de styrène à l'ADN. Les concentrations atmosphériques étaient de 13,4 à 525 µg/m<sup>3</sup> avec une moyenne de 159 µg/m<sup>3</sup> (n=20). Les niveaux d'adduits de l'oxyde de styrène à l'ADN (moyenne ± SD) étaient de 15,8 ± 3,22 RAL x 10<sup>8</sup> (1 : N2-(2-hydroxy-1-phényléthyl)-2'-deoxyguanosine 3,5-biphosphate ; n=47) et de 14,2 ± 2,30 RAL x 10<sup>8</sup> (2 : composé inconnu ; n=47). Les équations de corrélation n'étant pas rapportées par les auteurs, il n'est pas possible d'utiliser cette étude pour déterminer une VLB d'adduits à l'ADN.

## 5.3 Données expérimentales

Du fait de l'absence de données chez l'Homme permettant de relier directement les niveaux biologiques aux effets cancérigènes et qu'aucune VLEP n'est disponible en France pour l'oxyde de styrène, une démarche de construction d'une VLB à partir d'une benchmark dose (BMD) a été explorée. Cette BMD basée sur l'étude de Conti *et al.*, 1988, réalisée chez l'animal est détaillée dans l'annexe 3. Cependant, l'absence de données reliant une dose d'exposition à un niveau d'adduits ne permet pas à l'heure actuelle de proposer un IBE d'adduits de l'oxyde de styrène basé sur un niveau de risque. **Il n'est donc pas possible de proposer une VLB basée sur les niveaux d'adduits à partir des calculs d'excès de risque des effets cancérigènes**

## 5.4 Facteurs pouvant influencer les résultats

### Oxyde de styrène sanguin

La coexposition au styrène peut accroître les concentrations d'oxyde de styrène sanguin. Du fait de sa demi-vie courte, le moment de prélèvement peut influencer de façon importante les concentrations sanguines d'oxyde de styrène si le prélèvement sanguin est réalisé après l'arrêt de l'exposition.

**Adduits à l'albumine et à l'ADN**

L'étude de Rappaport *et al.* (1996) a montré que le tabagisme augmente les niveaux d'adduits de l'oxyde de styrène à l'albumine et à l'ADN. Une induction enzymatique conduisant à une formation plus importante d'oxyde de styrène à partir du styrène dans les expositions mixtes est aussi possible.

**Tableau 4 : Synthèse des facteurs pouvant affecter l'interprétation des résultats de l'oxyde de styrène sanguin**

<b>OXYDE DE STYRENE SANGUIN</b>	
Traitement médicamenteux	NR
Prise alimentaire	NR
Tabac	
Facteurs individuels physiologiques ou pathologiques	NR
Co-exposition à une ou plusieurs substance(s)	Styrène
Voie(s) d'exposition(s), description de la tâche	NR
Activité physique, effort, ...	NR
Fréquence et durée de l'exposition	NR

**Tableau 5 : Synthèse des facteurs pouvant affecter l'interprétation des résultats des adduits à l'albumine**

<b>ADDUITS A L'ALBUMINE</b>	
Traitement médicamenteux	NR
Prise alimentaire	NR
Tabac	Le tabagisme augmente les taux d'adduits de l'oxyde de styrène à l'albumine
Facteurs individuels physiologiques ou pathologiques	NR
Co-exposition à une ou plusieurs substance(s)	L'exposition au styrène peut produire les mêmes adduits à l'ADN
Voie(s) d'exposition(s), description de la tâche	NR
Activité physique, effort, ...	NR
Fréquence et durée de l'exposition	NR

**Tableau 6 : synthèse des facteurs pouvant affecter l'interprétation des résultats des adduits à l'ADN**

<b>ADDUITS A L'ADN</b>	
Traitement médicamenteux	NR
Prise alimentaire	NR
Tabac	Le tabagisme augmente les taux d'adduits de l'oxyde de styrène à l'ADN
Facteurs individuels physiologiques ou pathologiques	NR
Co-exposition à une ou plusieurs substance(s)	L'exposition au styrène peut produire les mêmes adduits à l'ADN
Voie(s) d'exposition(s), description de la tâche	NR
Activité physique, effort, ...	NR
Fréquence et durée de l'exposition	NR

## 5.5 Modalités de prélèvements

### Moment de prélèvement

#### **Oxyde de styrène sanguin**

L'oxyde de styrène sanguin doit être prélevé pendant l'exposition (au cours de la journée) ou à la toute fin du quart de travail (juste à la fin de l'exposition) en veillant à ce qu'il n'y ait pas de délai entre la fin de l'exposition et le moment du prélèvement. Même dans ce cas, la mesure ne reflètera que l'exposition des dernières heures plutôt que l'exposition moyenne de la journée.

#### **Adduits à l'albumine**

Les auteurs de l'étude de Yeowell-O'Connell *et al.* (1996) mentionnent que les prélèvements sanguins ont été faits le jour suivant la mesure de la concentration atmosphérique de l'oxyde de styrène. Étant donné la demi-vie de 20 jours de l'albumine, les prélèvements reflèteront les expositions antérieures cumulatives de plusieurs semaines, en supposant que les adduits n'affectent pas la demi-vie de la protéine.

#### **Adduits à l'ADN**

Dépendant du taux de réparation des adduits à l'ADN lymphocytaire ou monocytaire, les prélèvements reflèteront les expositions antérieures cumulatives des jours précédents voire des mois précédents.

## **Méthode de prélèvement**

### **Oxyde de styrène sanguin**

L'étude de Tornero-Velez *et al.* (2001) précise que le sang a été prélevé par ponction veineuse dans des tubes héparinés et que l'échantillon sanguin a été traité immédiatement au n-pentane, considérant l'importante réactivité chimique de l'oxyde de styrène avec les éléments sanguins (notamment les nucléophiles).

### **Adduits à l'albumine**

Les études de Rappaport *et al.* (1996) et de Yeowell-O'Connell *et al.* (1996) et de Fustinoni *et al.* (1998, 2008) mentionnent que le sang a été prélevé par ponction veineuse dans des tubes héparinés ou EDTA ; le plasma et les érythrocytes ont été séparés dans les 4 à 5 heures suivant le prélèvement.

### **Adduits à l'ADN**

La méthode de prélèvement des adduits à l'ADN dans l'étude de Rappaport *et al.* (1996) est décrite dans l'étude de Horvath *et al.* (1994). Dans cette étude, le sang a été prélevé par ponction veineuse dans des tubes héparinés ; les globules blancs ont été isolés dans les 4 heures suivant le prélèvement.

## **Conservation, transport des prélèvements**

### **Oxyde de styrène sanguin**

L'étude de Tornero-Velez *et al.* (2001) précise que les extraits de n-pentane ont été conservés dans des flacons en PTFE sertis à -80°C jusqu'à l'analyse.

### **Adduits à l'albumine**

Rappaport *et al.* (1996) et Yeowell-O'Connell *et al.* (1996) mentionnent que les échantillons contenus dans les tubes héparinés ont été réfrigérés environ 4 heures avant la séparation du plasma et de l'hémoglobine. Le plasma a été conservé à -80°C avant les analyses des adduits à l'albumine. Le type de contenant n'a pas été précisé.

### **Adduits à l'ADN**

La méthode de conservation des échantillons d'ADN utilisée dans l'étude de Rappaport *et al.* (1996) est décrite dans l'étude de Horvath *et al.* (1994). Les échantillons contenus dans les vacutainer® ont été traités environ 4 heures après la ponction veineuse. Les lymphocytes et les monocytes ont été isolés par centrifugation puis conservés à -70°C avant le processus d'isolement de l'ADN. Le contenant n'a pas été précisé.

## 6 Biométrie

OXYDE DE STYRENE SANGUIN	
Méthodes analytiques	
	Tornero-Velez et al. (2001)
Technique d'analyse Références bibliographiques	GC-PCI-MS (comparaison résultats avec GC-MS-MS-NCI après dérivatisation avec du pentafluorophényl isothiocyanate)
Limite détection	0,05 µg/l (Tornero-Velez et Rappaport 2001 citant Tornero-Velez et al. 2001) 0,05 µg/l (Serdar et al., 2006)
Limite de quantification	NR
Fidélité	NR
Justesse	RSDs = 10,4 (0,05 à 0,5 mg/l)
Etalon de référence	Standard interne : [2H8]SO
Existence d'un programme de contrôle qualité inter-laboratoire	NR

ADDUITS A L'ALBUMINE	
Méthodes analytiques	
Méthode 1 (Rappaport et al., 1993)	
Technique d'analyse Références bibliographiques	Traitement des échantillons par Nickel de Raney et chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse (GC-MS) pour les adduits OS-albumine
Limite détection	NR
Limite de quantification	NR
Fidélité	NR
Justesse	NR
Etalon de référence	Les standards internes sont préparés en modifiant l'Alb avec du 4-méthyl-SO pour produire des adduits similaires.
Existence d'un programme de contrôle qualité inter-laboratoire	NR

ADDUITS A L'ADN		
Méthodes analytiques		
	<b>Méthode 1 (Horvath et al., 1994)</b>	<b>Méthode 2 (Yao et al., 2016)</b>

Technique d'analyse Références bibliographiques	Postmarquage au $^{32}\text{P}$ suivi d'une chromatographie (Description de la méthode du postmarquage au $^{32}\text{P}$ (Phillips and Arlt, 2007, Rappaport et al., 1996))	HPLC-MS/MS sur MS de type Q-Trap après hydrolyse enzymatique
Limite détection	NR	
Limite de quantification	NR	
Fidélité	NR	
Justesse	NR	
Etalon de référence	Le produit d'une réaction de l'oxyde de styrène avec l'ADN purifié est utilisé afin de produire un standard marqué pour l'analyse des échantillons	Le produit d'une réaction de l'oxyde de styrène avec le RC-5-HTT, un oligonucléotide simple brin de séquence 5'-CCAGACATTGCCCAGGTCCA-3' hydrolysé est utilisé afin de produire un standard marqué pour l'analyse des échantillons
Existence d'un programme de contrôle qualité inter-laboratoire	NR	

## 7 Construction des valeurs limites biologiques et choix de valeurs biologiques de référence

### Compte tenu du fait que :

- Que l'oxyde de styrène est un métabolite du styrène et que l'exposition à l'oxyde de styrène est généralement concomitante avec celle du styrène (l'exposition professionnelle à l'oxyde de styrène seul est rare) ;
- Qu'il existe très peu de données sur les différents liens entre les expositions et les effets, les effets et les IBE potentiels ou encore les concentrations atmosphériques et les IBE ;
- Qu'il n'existe pas de VLEP pour l'oxyde de styrène disponible à ce jour ;
- Qu'il n'existe pas de valeurs d'adduits de l'oxyde de styrène à l'ADN ou à l'albumine en population générale non exposée en dehors de quelques témoins d'études menées chez des travailleurs ;
- Que la demi-vie de l'oxyde de styrène sanguin est courte (0,7 h),

**aucune valeur limite biologique (VLB) ne peut être proposée.**

Dans la majorité des cas, l'exposition à l'oxyde de styrène est concomitante avec une exposition au styrène. Pour cette raison, le CES rappelle les recommandations concernant les expositions au **styrène** (ANSES, 2014) :

- IBE retenus : styrène urinaire et somme des acides mandélique et phénylglyoxylique
- VLB basées sur la VLEP-8h de 100 mg.m<sup>-3</sup> (effets neurotoxiques)
  - Styrène urinaire : 40 µg.L<sup>-1</sup>
  - Somme des acides mandélique et phénylglyoxylique : 600 mg.g<sup>-1</sup> cr
- VBR pour la somme des acides mandélique et phénylglyoxylique: 3 mg.g<sup>-1</sup> cr

Compte tenu de l'état actuel des connaissances, aucun élément ne permet d'affirmer ou d'infirmer que ces IBE pour le styrène protègent les travailleurs de l'exposition à l'oxyde de styrène et des effets associés.

Dans la mesure où aucune étude en population générale ou dans des populations de témoins non professionnellement exposés ne recense de concentrations pour les trois IBE retenus comme pertinents, **aucune VBR ne peut être recommandée.**

## 8 Conclusions du groupe de travail

VLB basée sur un effet : **Aucune**

VLB basée sur une VLEP-8h : **Aucune**

VBR : **Aucune**

**L'oxyde de styrène, considéré génotoxique par le CIRC (CIRC 2019), étant classé cancérigène 1B selon le CLP et 2A par le CIRC, l'exposition, doit être réduite au niveau le plus faible possible.**



## 9 Bibliographie

Akira, H., Y. Akihiro, I. Hiroshi, W. Tadashi, S. Kimihiko, H. Ichiro and S. Kiyomi (1989). "Glutathione conjugation of styrene 7, 8-oxide enantiomers by major glutathione transferase isoenzymes isolated from rat livers." *Biochemical pharmacology* 38(24): 4405-4413.

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

ANSES (2014). 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. (Agence nationale de sécurité sanitaire, de l'environnement et du travail. Maisons-Alfort, ANSES). 78p

Bastlova, T. and A. Podlutsky (1996). "Molecular analysis of styrene oxide-induced hprt mutation in human T-lymphocytes." *Mutagenesis* 11(6): 581-591.

Bidoli, F., L. Airoidi and C. Pantarotto (1980). "Quantitative determination of styrene-7, 8-oxide in blood by combined gas chromatography-multiple ion detection mass fragmentography." *Journal of Chromatography A* 196(2): 314-318.

Bingham, E., B. Cohrssen and C. H. Powell (2001). *Patty's toxicology*. John Wiley.

Buschini, A., G. De Palma, P. Poli, A. Martino, C. Rossi, P. Mozzoni, E. Scotti, L. Buzio, E. Bergamaschi and A. Mutti (2003). "Genetic polymorphism of drug-metabolizing enzymes and styrene-induced DNA damage." *Environmental and Molecular Mutagenesis* 41(4): 243-252.

Burst, L. (1979). "Mutagenic effects of styrene and styrene oxide." *Mutation Research* 67(3): 201-208.

Cantoreggi, S., Lutz, WK., (1993). Covalent binding of styrene to DNA in rat and mouse. *Carcinogenesis* 14(3): 355-360.

Carlson, G. P. (1998). "Metabolism of styrene oxide to styrene glycol by mouse liver and lung." *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A* 53(1): 19-27.

Carlson, G. P. (2000). "Metabolism of styrene oxide to styrene glycol in enriched mouse clara-cell preparations." *Journal of Toxicology and Environmental Health Part* 61(8): 709-717.

CIRC. 1994. Styrene-7,8-Oxide. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic to Humans. Geneva, *World Health Organization, International Agency for Research on Cancer*. 60: 321-346.

CIRC. 2003. Predictive Value of Rodent Forestomach and Gastric Neuroendocrine Tumours in Evaluating Carcinogenic Risks to Humans. *World Health Organization, International Agency for Research on Cancer*. 12 p.

CIRC. 2019. Styrene, Styrene-7,8-Oxide and Quinoline. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic to Humans. Geneva, *World Health Organization, International Agency for Research on Cancer*. Vol 121. 355 p

Chakrabarti, S., X. X. Zhang and C. L. Richer (1997). "Influence of duration of exposure to styrene oxide on sister chromatid exchanges and cell-cycle kinetics in cultured human blood lymphocytes in vitro." *Mutation Research* 395(1): 37-45.

Clayton, G. D. (1981). *Patty's industrial hygiene and toxicology: Toxicology*. J. Wiley & Sons. p.

Conti, B., C. Maltoni, G. Perino and A. Ciliberti (1988). "Long Term Carcinogenicity Bioassays on Styrene Administered by Inhalation, Ingestion and Injection and Styrene Oxide Administered by Ingestion in Sprague Dawley Rats, and Para Methylstyrene Administered by Ingestion in Sprague Dawley Rats and Swiss Mice." *Annals of the New York Academy of Sciences* 534(1): 203-234.

- Cosnier, F., Nunge, H., Cossec, B., Gate, L. (2012). "Simultaneous determination of aromatic acid metabolites of styrene and styrene-oxide in rat urine by gas chromatography - flame ionisation detection." *Journal of analytical toxicology* 36(5):312-318
- Coombs, P. A. Mullins and W. R. Brown (1998). "Chronic toxicity/oncogenicity study of styrene in CD rats by inhalation exposure for 104 weeks." *Toxicological Sciences* 46(2): 266-281.
- Csanády, G.A., Mendrala, A.L., Nolan, R.J., Filser, J.G. (1994). A physiologic pharmacokinetic model for styrene and styrene-7,8-oxide in mouse, rat and man. *Archives of Toxicologie*, 68(3):143–157
- Dalbey, W.E., Rodriguez, S.C., Cope C., Cruzan G. (1996). Cell proliferation in rat forestomach following oral administration of styrene oxide. *Fundam Appl Toxicol*, 30(1):67–74. Dare, E., R. Tofighi, L. Nutt, M. V. Vettori, M. Emgard, A. Mutti and S. Ceccatelli (2004). "Styrene 7,8-oxide induces mitochondrial damage and oxidative stress in neurons." *Toxicology* 201(1-3): 125-132.
- De Palma, G., P. Manini, P. Mozzoni, R. Andreoli, E. Bergamaschi, S. Cavazzini, I. Franchini and A. Mutti (2001). "Polymorphism of xenobiotic-metabolizing enzymes and excretion of styrene-specific mercapturic acids." *Chemical research in toxicology* 14(10): 1393-1400.
- Dostal, L. A., A. Aitio, C. Harris, A. V. Bhatia, O. Hernandez and J. Bend (1986). "Cytosolic glutathione S-transferases in various rat tissues differ in stereoselectivity with polycyclic arene and alkene oxide substrates." *Drug metabolism and disposition* 14(3): 303-309.
- Fustinoni, S., L. Campo, P. Manini, M. Buratti, S. Waidyanatha, G. De Palma, A. Mutti, V. Foa, A. Colombi and S. M. Rappaport (2008). "An integrated approach to biomonitoring exposure to styrene and styrene-(7,8)-oxide using a repeated measurements sampling design." *Biomarkers* 13(6): 560-578.
- Fustinoni, S., Campo, L., Manini P., Buratti M., Waidyanatha, S., De Palma, G., Mutti, A., Foa, V., Colombi, A., Rappaport S.M. (2008). An integrated approach to biomonitoring exposure to styrene and styrene-(7,8)-oxide using a repeated measurements sampling design. *Biomarkers*, 13(6):560–78
- Gadberry, M. G., D. B. DeNicola and G. P. Carlson (1996). "Pneumotoxicity and hepatotoxicity of styrene and styrene oxide." *Journal of toxicology and environmental health* 48(3): 273-294.
- Gaté L., Micillino J.C., Sébillaud S., Langlais C., Cosnier F., Nunge H., Darne C., Guichard Y., Binet S. (2012). Genotoxicity of styrene-7,8-oxide and styrene in Fisher 344 rats: A 4-week inhalation study. *Toxicology Letters* 211: 211–219
- Godderis, L., P. Aka, R. Mateuca, M. Kirsch-Volders, D. Lison and H. Veulemans (2006). "Dose-dependent influence of genetic polymorphisms on DNA damage induced by styrene oxide, ethylene oxide and gamma-radiation." *Toxicology* 219(1): 220-229.
- Golkar (1993). "Monitoring occupational exposure to styrene from hemoglobin adducts and metabolites in blood." *Scandinavian journal of work, environment & health*: 255-263.
- Haufroid, V. et al. Interest of genotyping and phenotyping of drug-metabolizing enzymes for the interpretation of biological monitoring of exposure to styrene. *Pharmacogenetics* 12, 691-702 (2002).
- Hathway, D. E. (1981). Foreign Compound Metabolism in Mammals. *Royal Society of Chemistry*. p.
- Horvath, E., K. Pongracz, S. Rappaport and W. J. Bodell (1994). "32P-post-labeling detection of DNA adducts in mononuclear cells of workers occupationally exposed to styrene." *Carcinogenesis* 15(7): 1309-1315.
- INRS. (2015). "Biotox. Base de données sur Internet." Retrieved 28 mars, 2016, from <http://www.inrs.fr/publications/bdd/biotox.html>.
- Katoh, T., K. Higashi and N. Inoue (1989). "Sub-chronic effects of styrene and styrene oxide on lipid peroxidation and the metabolism of glutathione in rat liver and brain." *Journal of Toxicological Sciences* 14(1): 1-9.

- Kessler, W., X. Jiang and J. Filser (1992). Pharmacokinetics of styrene-7, 8-oxide in the mouse and the rat. 32nd Annual Meeting of the German Society of Occupational Medicine, Köln, *Gentner Verlag Stuttgart*.
- Kohlerova, R. and R. Stetina (2003). "The repair of DNA damage induced in human peripheral lymphocytes with styrene oxide." *Acta Medica (Hradec Kralove)* 46(3): 95-100.
- Koskinen, M., P. Vodička and K. Hemminki (2000). "Adenine N3 is a main alkylation site of styrene oxide in double-stranded DNA." *Chemico-biological interactions* 124(1): 13-27.
- Laffon, B., E. Pasaro and J. Mendez (2001). "Genotoxic effects of styrene-7,8-oxide in human white blood cells: comet assay in relation to the induction of sister-chromatid exchanges and micronuclei." *Mutation Research* 491(1-2): 163-172.
- Langvardt, P. and R. Nolan (1991). "Determination of styrene-7, 8-oxide in whole rat blood by gas chromatography—mass spectrometry." *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 567(1): 93-103.
- Leibman, K. C. (1975). "Metabolism and toxicity of styrene." *Environmental health perspectives* 11: 115.
- Linhart, I., I. Gut, J. Šmejkal and J. Novák (2000). "Biotransformation of styrene in mice. Stereochemical aspects." *Chemical research in toxicology* 13(1): 36-44.
- Lijinsky, W (1986). Rat and mouse forestomach tumors induced by chronic oral administration of styrene oxide. *Journal of the National Cancer Institute*, 77(2):471–6
- Linhart, I., J. Smejkal and I. Mladkova (1998). "Stereochemical aspects of styrene biotransformation." *Toxicology Letters* 94(2): 127-135.
- Löf, A., E. Gullstrand, E. Lundgren and M. B. Nordqvist (1984). "Occurrence of styrene-7, 8-oxide and styrene glycol in mouse after the administration of styrene." *Scandinavian journal of work, environment & health*: 179-187.
- Maltoni, C., Failla, G., Kassapidis, G. (1979). First experimental demonstration of the carcinogenic effects of styrene oxide; long-term bioassays on Sprague-Dawley rats by oral administration
- Mendrala, A. L., P. W. Langvardt, K. D. Nitschke, J. F. Quast and R. J. Nolan (1993). "In vitro kinetics of styrene and styrene oxide metabolism in rat, mouse, and human." *Archives of toxicology* 67(1): 18-27.
- Mráz, J., Hanzlíková, I., Dušková, Š., Dabrowská, L., Chrástecká, H., Vajtrová, R., & Linhart, I. (2016). *Biological fate of styrene oxide adducts with globin: Elimination of cleavage products in the rat urine*. *Toxicology Letters*, 261, 26–31
- Nordqvist, M., E. Ljungquist and A. Löf (1983). Metabolic conversion of styrene to styrene glycol in the mouse. Occurrence of the intermediate styrene-7, 8-oxide. *Extrahepatic Drug Metabolism and Chemical Carcinogenesis*, Elsevier Amsterdam.
- Nordqvist, M. B., A. Löf, S. Osterman-Golkar and S. Walles (1985). "Covalent binding of styrene and styrene-7, 8-oxide to plasma proteins, hemoglobin and DNA in the mouse." *Chemico-biological interactions* 55: 63-73.
- Norppa, H., E. Elovaara, K. Husgafvel-Pursiainen, M. Sorsa and H. Vainio (1979). "Effects of styrene oxide on chromosome aberrations, sister chromatid exchange and hepatic drug biotransformation in chinese hamsters in vivo." *Chemico-biological interactions* 26(3): 305-315.
- Osterman-Golkar, S. (1992). Investigation of the adduct formation between styrene or styrene metabolites and hemoglobin or blood proteins in rats and mice (in vitro and in vivo). Study performed for the ECETOC Task Force Styrene. In: *Studies on Toxicokinetics and Macromolecular Binding of Styrene*. ECETOC. Brussels, *European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals*. 2.

- Osterman-Golkar, S., A. Christakopoulos, V. Zorcec and K. Svensson (1995). "Dosimetry of styrene 7, 8-oxide in styrene-and styrene oxide-exposed mice and rats by quantification of haemoglobin adducts." *Chemico-biological interactions* 95(1): 79-87.
- Otteneder, M., U. Lutz and W. K. Lutz (2002). "DNA adducts of styrene-7,8-oxide in target and non-target organs for tumor induction in rat and mouse after repeated inhalation exposure to styrene." *Mutation Research* 500(1-2): 111-116.
- Pacifici, G. M., B. Lindberg, H. Glaumann and A. Rane (1983). "Styrene oxide metabolism in rhesus monkey liver: enzyme activities in subcellular fractions and in isolated hepatocytes." *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 226(3): 869-875.
- Patty, F. A., G. D. Clayton, F. E. Clayton and M. C. Battigelli (1985). *Patty's Industrial hygiene and toxicology*. Wiley. p.
- Phillips, D. H. and V. M. Arlt (2007). "The 32P-postlabeling assay for DNA adducts." *Nature protocols* 2(11): 2772-2781.
- Poli, D., M. V. Vettori, P. Manini, R. Andreoli, R. Alinovi, S. Ceccatelli and A. Mutti (2004). "A novel approach based on solid phase microextraction gas chromatography and mass spectrometry to the determination of highly reactive organic compounds in cells cultures: Styrene oxide." *Chemical research in toxicology* 17(1): 104-109.
- Rappaport, S. M., D. Ting, Z. Jin, K. Yeowell-O'Connell, S. Waidyanatha and T. McDonald (1993). "Application of Raney nickel to measure adducts of styrene oxide with hemoglobin and albumin." *Chemical research in toxicology* 6(2): 238-244.
- Rappaport, S. M., K. Yeowell-O'Connell, W. Bodell, J. W. Yager and E. Symanski (1996). "An investigation of multiple biomarkers among workers exposed to styrene and styrene-7,8-oxide." *Cancer Research* 56(23): 5410-5416.
- Ross, A. M., T. M. Pohl, K. Piazza, M. Thomas, B. Fox and D. L. Whalen (1982). "Vinyl epoxide hydrolysis reactions." *Journal of the American Chemical Society* 104(6): 1658-1665.
- Ryan, A. J. and J. R. Bend (1977). "The metabolism of styrene oxide in the isolated perfused rat liver. Identification and quantitation of major metabolites." *Drug Metabolism and Disposition* 5(4): 363-367.
- Salvolainen et Vainio (1976). "Organ Distribution and Nervous system binding of styren and styrene oxide". *Toxicology* 8: 135-141
- Serdar, B., Tornero-Velez, R., Echeverria, D., Nylander-French, L.A., Kupper, L.L., Rappaport, S.M. (2006). Predictors of occupational exposure to styrene and styrene-7,8- oxide in the reinforced plastics industry. *Occup Environ Med*, 63(10):707–12. Steele, J. W., B. Yagen, O. Hernandez, R. H. Cox, B. R. Smith and J. R. Bend (1981). "The metabolism and excretion of styrene oxide-glutathione conjugates in the rat and by isolated perfused liver, lung and kidney preparations." *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 219(1): 35-41.
- Teixeira, J. P., J. Gaspar, J. Roma-Torres, S. Silva, C. Costa, J. Roach, O. Mayan, J. Rueff and P. B. Farmer (2007). "Styrene-oxide N-terminal valine haemoglobin adducts in reinforced plastic workers: possible influence of genetic polymorphism of drug-metabolising enzymes." *Toxicology* 237(1-3): 58-64.
- Tornero-Velez, R., S. Waidyanatha, H. L. Perez, S. Osterman-Golkar, D. Echeverria and S. M. Rappaport (2001). "Determination of styrene and styrene-7,8-oxide in human blood by gas chromatography-mass spectrometry." *Journal of Chromatography B: Biomedecal Sciences and Applications* 757(1): 59-68.
- Sugai, S., Murata, K., Kitagaki, T., Tomita, I. Studies on Eye Irritation Caused by Chemicals in rabbits--II. Structure-activity Relationships and in Vitro Approach to Primary Eye Irritation of Salicylates in Rabbits. *Toxicological Sciences* , 16 (3), 111-30
- .

- Turner, M., N. A. Mantick and G. P. Carlson (2005). "Comparison of the depletion of glutathione in mouse liver and lung following administration of styrene and its metabolites styrene oxide and 4-vinylphenol." *Toxicology* 206(3): 383-388.
- Van Anda, J., B. R. Smith, J. R. Fouts and J. R. Bend (1979). "Concentration-dependent metabolism and toxicity of [<sup>14</sup>C] styrene oxide in the isolated perfused rat liver." *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 211(1): 207-212.
- Vodicka, P., M. Koskinen, R. Stetina, P. Soucek, L. Vodickova, Z. Matousu, M. Kuricova and K. Hemminki (2003). "The role of various biomarkers in the evaluation of styrene genotoxicity." *Cancer detection and prevention* 27(4): 275-284.
- Vodicka, P., M. Koskinen, L. Vodickova, R. Stetina, P. Smerak, I. Barta and K. Hemminki (2001). "DNA adducts, strand breaks and micronuclei in mice exposed to styrene by inhalation." *Chemico-biological Interactions* 137(3): 213-227.
- Vodicka, P. E., I. Linhart, J. Novak, M. Koskinen, L. Vodickova and K. Hemminki (2006). "7-Alkylguanine adduct levels in urine, lungs and liver of mice exposed to styrene by inhalation." *Toxicology and Applied Pharmacology* 210(1-2): 1-8.
- Watabe, T., N. Ozawa and K. Yoshikawa (1981). "Stereochemistry in the oxidative metabolism of styrene by hepatic microsomes." *Biochemical pharmacology* 30(12): 1695-1698.
- Wenker, M. A., S. Kežić, A. C. Monster and F. A. de Wolff (2000). "Metabolism of styrene-7, 8-oxide in human liver in vitro: interindividual variation and stereochemistry." *Toxicology and applied pharmacology* 169(1): 52-58.
- Yeowell-O'Connell, K., Z. Jin and S. M. Rappaport (1996). "Determination of albumin and hemoglobin adducts in workers exposed to styrene and styrene oxide." *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 5(3): 205-215.

---

## **ANNEXES**

---

## Annexe 1 : Métabolisation : description des études *in vitro*

Lorsque des préparations cytosoliques et microsomiales de cellules hépatiques humaines ont été incubées avec de l'oxyde de styrène, l'activité de l'époxyde hydrolase microsomiale était supérieure à l'activité cytosolique. Les glutathions S-transférases hépatiques cytosoliques humaines sont subdivisées en différentes classes ; la classe  $\mu$  s'est avérée conjuguer plus facilement l'oxyde de styrène que la classe  $\alpha$ , avec une  $K_m$  de 4,9 mmol/l et une  $V_{max}$  de 22 nmol/mg par minute (CIRC, 1994). Cependant, environ la moitié de la population caucasienne n'a pas la classe  $\mu$  de la glutathion S-transférase. Une activité de la glutathion S-transférase et de l'époxyde hydrolase a été détectée dans les tissus fœtaux humains et les formes  $\alpha$  et  $\pi$  de la glutathion S-transférase étaient présentes.

Une étude utilisant des foies isolés et perfusés de rats en présence de différentes concentrations d'oxyde de styrène (10, 50, 100, 500  $\mu$ mol par 130 mL du milieu de recirculation de perfusion) a montré que le taux de formation des métabolites de styrène glycol était beaucoup plus élevé que la formation de thioéthers conjugués (les glutathions conjugués et ses produits de dégradation) pour toutes les concentrations testées, à l'exception de la concentration la plus élevée. À cette dernière concentration, les deux types de métabolites étaient produits en quantités égales. L'excrétion de métabolites par la voie biliaire augmentait avec l'accroissement des doses d'oxyde de styrène administrées. Cependant, à la plus forte dose de 500  $\mu$ mol d'oxyde de styrène, le taux d'excrétion biliaire et par conséquent la bile excrétée diminue possiblement, suite à des dommages causés au système de transport biliaire (Van Anda *et al.*, 1979).

Dans une autre étude, l'introduction d'oxyde de styrène radiomarqué dans un système de foies isolés et perfusés de rats a montré que 27-40% de la radioactivité administrée était excrétée dans la bile sous forme d'un composé identifié comme étant du S-(1-phényl-2-hydroxyéthyl)glutathion, par comparaison avec un standard de référence (Ryan and Bend, 1977). Dans le perfusat recirculé, des quantités égales de styrène glycol, d'acide mandélique et de dérivés du glutathion ont été retrouvées.

Le métabolisme et l'excrétion des conjugués de l'oxyde de styrène au glutathion ont aussi été étudiés chez le rat par Steele *et al.* (1981), par une technique d'isolement et de perfusion de foies, poumons et reins et ajout au perfusat d'oxyde de styrène conjugué au glutathion et radiomarqué. Les animaux intacts ont converti les conjugués de l'oxyde de styrène au glutathion presque entièrement en dérivés de l'oxyde de styrène-N-acétylcystéine (acides mercapturiques), avec de petites quantités de conjugués cystéine, cystéinylglycine et (conjugué inchangé) de glutathion. Seule une faible proportion de la radioactivité était retrouvée dans la bile (environ 5%) et les fèces (moins de 1%). Aux doses étudiées (25-30  $\mu$ mol/rein), le rein perfusé isolé conservait sa capacité à convertir la quasi-totalité des conjugués du glutathion et la composante principale retrouvée dans l'urine à partir du rein isolé étaient les conjugués à la cystéine. L'expérience sur les poumons isolés et perfusés chez le rat a montré que cet organe avait un rôle mineur dans le métabolisme de conjugués de l'oxyde de styrène et de thioéthers. L'expérience sur des foies isolés et perfusés a montré qu'un prétraitement au phénobarbital avait peu d'effet sur le taux de sécrétion biliaire mais qu'il avait des conséquences qualitatives et quantitatives sur le métabolisme des conjugués de l'oxyde de styrène au glutathion dans le milieu de perfusion (Steele *et al.*, 1981). En effet, les foies non traités métabolisaient 40% de la dose en 2,5 heures tandis que ceux traités métabolisaient 90,4% de la dose après le même temps. De plus, le traitement au phénobarbital doublait le niveau de gamma-glutamyltransférase. Ce haut niveau de conjugués dans le milieu de perfusion concorde avec la théorie que l'activité de la  $\gamma$ -glutamyltransférase est extracellulaire (Steele *et al.*, 1981).

Par ailleurs, l'activité enzymatique de la GSH en présence d'oxyde de styrène a été étudiée après exposition répétée et en fonction de la dose. Une exposition répétée à de l'oxyde de styrène peut entraîner une baisse de GSH et de GSSG (sa forme oxydée) et donc une baisse du métabolisme catalysé par la glutathion-S-transférase. Ceci entraînerait une baisse du système de défense cellulaire contre les agents endogènes, ce qui peut produire une augmentation de la peroxydation des lipides (Younes and Siegers, 1981; Katoh *et al.*, 1989; Turner *et al.*, 2005). Une exposition de hamsters chinois à l'oxyde de styrène par inhalation à des concentrations de 25, 50, 75 et 100 ppm a aussi montré une diminution de la concentration hépatique de la GSH en fonction de la dose (Norppa *et al.*, 1979). Les temps d'exposition étaient de 6 heures la première journée et de 3 heures la seconde journée ou de 6 heures par jour pendant 3 jours consécutifs et de 3 heures la quatrième journée.

L'activité et la cinétique de l'époxyde hydrolase ont été étudiées en utilisant différentes fractions subcellulaires de foies isolés de singe Rhesus (Pacifici *et al.*, 1983). Avec une concentration saturée du substrat (1 mM), l'activité enzymatique (moyenne  $\pm$  SD) était de 1,51  $\pm$  0,45 nmol/min/mg de protéines pour la fraction nucléaire, de 3,50  $\pm$  1,11 nmol/min/mg pour la fraction mitochondriale, de 14,8  $\pm$  2,28 nmol/min/mg pour la fraction microsomiale et de 1,69  $\pm$  2,26 nmol/min/mg pour la fraction soluble. La  $V_{max}$  (moyenne  $\pm$  SD) était de 1,64  $\pm$  0,65 nmol/min/mg pour la fraction nucléaire, de 3,87  $\pm$  1,71 nmol/min/mg pour la fraction mitochondriale, de

19,8 ± 5,4 nmol/min/mg pour la fraction microsomiale et de 2,72 ± 1,36 nmol/min/mg pour la fraction soluble. Le Km (moyenne ± SD) était de 0,09 ± 0,02 mmol pour la fraction nucléaire, de 0,07 ± 0,01 mmol pour la fraction mitochondriale, de 19,8 ± 5,4 mmol pour la fraction microsomiale et de 2,72 ± 1,36 mmol pour la fraction soluble. Le métabolisme de l'oxyde de styrène par des hépatocytes a également été étudié. Il a été montré que l'époxyde hydrolase était présente dans toutes les fractions subcellulaires de foies de singes Rhésus. L'oxyde de styrène était principalement métabolisé en styrène glycol par les hépatocytes isolés et aucune conjugaison avec le glutathion n'a été observée dans ces conditions (Pacifici *et al.*, 1983).

Pour étudier l'étendue de la variation interindividuelle, des préparations de microsomes de 20 foies humains ont été incubées avec du (*R*)- et (*S*)-oxyde de styrène séparément (de 1 à 2000 µM) et les cinétiques de Michaelis-Menten ont été déterminées. De plus, les échantillons ont été génotypés pour deux polymorphismes génétiques du gène du microsome époxyde hydrolase. Les valeurs de Vmax, Km et Vmax / Km des deux énantiomères différaient de trois à cinq fois entre les différentes foies. Aucune association n'a été retrouvée entre les constantes enzymatiques et les polymorphismes génétiques du gène de l'époxyde hydrolase. L'hydrolyse des énantiomères de l'oxyde de styrène se produit d'une manière énantiosélective, avec l'énantiomère S comportant une Km environ six fois plus élevée et une Vmax cinq fois plus élevée que le (*R*)-énantiomère. *In vivo*, l'oxydation du styrène s'effectue avec une faible stéréosélectivité (Watabe *et al.*, 1981) et les deux énantiomères de l'oxyde de styrène sont formés; par conséquent, des incubations d'oxyde de styrène racémique ont été réalisées *in vitro* pour vérifier les interactions possibles entre les énantiomères. Lorsque l'oxyde de styrène racémique a été utilisé comme substrat, l'énantiomère R agissait comme un inhibiteur de l'hydrolyse de l'énantiomère S. Ces résultats indiquent que l'hydrolyse de l'oxyde de styrène médiée par l'époxyde hydrolase microsomiale est sujette à une variation interindividuelle et que l'hydrolyse de l'énantiomère le plus toxique est favorisée (Wenker *et al.*, 2000).



## Annexe 2 : métabolisation : description des études animales rapportant les formations d'adduits

En présence de glutathion S-transférase, incluant la forme  $\mu$ , la forme R est favorisée (Akira *et al.*, 1989; CIRC, 1994). La forme R est substituée en C7 et la forme S- en C8 (Dostal *et al.*, 1986). Des rats Wistar mâles et femelles ont reçu du styrène par injection intrapéritonéale (240 mg/kg p.c., 10 mâles et 10 femelles), du (R)-oxyde de styrène (150 mg/kg p.c., 5 mâles), (S)-oxyde de styrène (150 mg/kg p.c., 5 mâles) et du racémique d'oxyde de styrène (150 mg/kg p.c., 8 mâles) dissous dans de l'huile de tournesol (2 ml/kg p.c.) afin de quantifier les énantiomères de l'acide mandélique et les régioisomères et diastéréoisomères de l'acide mercapturique. Suite à l'injection de (R)- et (S)-oxyde de styrène, une excrétion prédominante de (R)- et (S)-acide mandélique a été observée, respectivement. Le racémique d'oxyde de styrène administré a mené à la formation de (R)-acide mandélique principalement, tandis que le styrène a généré un racémique d'acide mandélique (Linhart *et al.*, 1998). La régiosélectivité de l'acide mercapturique était similaire après injection de styrène et de (R)- et (S)-oxyde de styrène. L'injection intrapéritonéale de ces trois produits a conduit à la formation de N-acétyl-(S)(1-phényl-2-hydroxyéthyl)cystéine (MA1) et N-acétyl-(S)(2-phényl-2-hydroxyéthyl)cystéine (MA2), dans un ratio de 2 :1. La conversion en acides mercapturiques était légèrement plus importante pour le (R)-oxyde de styrène (28%) que pour le S-oxyde de styrène (19%). Néanmoins, l'injection de (R)-oxyde de styrène a produit du (S,R)-MA1 et (R,R)-MA2 tandis que l'injection de (S)-oxyde de styrène a produit du (R,R)-MA1 et (S,R)-MA2 (Linhart *et al.*, 1998). Après injection de styrène, les ratios d'isomères de (R,R)/(S,R)- formés étaient de 80:20 et 15:85 pour le MA1 et MA2, respectivement. De plus, chez le mâle, 6% de la dose a été excrété sous la forme de MA1/MA2 avec un ratio de 68:23. Chez la femelle, 15% de la dose a été excrété sous la forme de MA1/MA2 avec un ratio de 66:34. Ces résultats suggèrent que, chez le rat, le styrène est principalement métabolisé en (S)-oxyde de styrène. Cet énantiomère est moins mutagène que le (R)-oxyde de styrène (Linhart *et al.*, 1998).

Des souris B6F3C1 ont été exposées par voie intrapéritonéale à du styrène (400 mg/kg p.c., 30 souris), du (R)-oxyde de styrène (150 mg/kg p.c., 35 souris), S-oxyde de styrène (150 mg/kg p.c., 35 souris) et du racémique d'oxyde de styrène (150 mg/kg p.c., 30 souris). Les profils urinaires des métabolites neutres et acides ont été déterminés par GC/MS. L'acide mandélique et les acides mercapturiques N-acétyl-(S)(1-phényl-2-hydroxyéthyl)cystéine (MA1) et N-acétyl-(S)(2-phényl-2-hydroxyéthyl)cystéine (MA2) ont été identifiés comme étant les principaux métabolites urinaires du styrène et de l'oxyde de styrène chez la souris. Le styrène glycol était le métabolite neutre principal. Le taux d'excrétion de ce métabolite était 5 à 10 fois plus lent que celui de l'acide mandélique. Parmi les métabolites quantifiables produits, plusieurs métabolites mineurs ont été identifiés. Des acides phénoliques ont été identifiés dont le 2-(4-hydroxyphényl)éthanol, l'acide (4-hydroxyphényl)acétique et deux isomères de l'acide hydroxymandélique. L'injection intrapéritonéale d'énantiomères purs d'oxyde de styrène a produit principalement de l'acide mandélique de même forme énantiomère. Le styrène était métabolisé principalement en S- acide mandélique. Environ 12 à 15% des doses administrées de tous les composés ont mené à la formation de MA1 et MA2. La conversion en acides mercapturiques était hautement régio- et stéréosélective, avec une prédominance à former le régioisomère MA1. Par rapport à l'injection d'oxyde de styrène racémique, l'administration équimolaire de styrène a proportionnellement conduit à la formation d'un peu plus de S-oxyde de styrène que de (R)-oxyde de styrène (Linhart *et al.*, 2000).

Une autre étude a comparé le métabolisme du (R)-, (S)- et du racémique d'oxyde de styrène en styrène glycol, à partir des préparations microsomiales de poumons et de foies de souris albinos non Swiss NSA et Swiss CD-1 (Carlson, 1998). L'activité enzymatique était supérieure dans les préparations de foies comparativement à celles de poumons ( $V_{max} = 0,088$  nmol/min/mg de protéine dans la fraction microsomale de poumon humain contre 2,1 nmol/min/mg de protéine dans la fraction microsomale de foie humain). Cette activité est également différente en fonction des espèces. Ainsi pour la fraction microsomale hépatique les  $V_{max}$  chez l'Homme, la souris et le rat sont respectivement de 2,1, 9,3 et 13 nmol/min/mg de protéine (Vodicka *et al.* 2006). La formation de (R)-styrène glycol était favorisée en présence du racémique d'oxyde de styrène. Le métabolisme hépatique de l'oxyde de styrène était inductible par l'hydroxyanisole butylé (BHA) alors que le métabolisme pulmonaire ne l'était pas. Les données indiquent que la biotransformation de l'oxyde de styrène en styrène glycol varie selon le sexe mais pas selon la souche de souris utilisée et donc ne peut expliquer la variation des effets toxiques observés entre les différentes souches de souris (ex : Swiss albino vs. non Swiss albino) ne peuvent pas être prises en compte dans ce processus de détoxification. De plus, des différences dans cette réaction entre les sexes ont été observées (Carlson, 1998).

Une étude du même auteur (Carlson, 2000) rapporte des résultats similaires quant au métabolisme pulmonaire de l'oxyde de styrène en styrène glycol, catalysé par l'époxyde hydrolase. En effet, des cellules de Clara de souris incubées avec du racémique d'oxyde de styrène ont conduit à la formation de (R)-styrène glycol

principalement, avec un ratio de R/S styrène glycol de 3,6. Ces mêmes types de cellules incubées avec du (*R*)- ou (*S*)-oxyde de styrène ont produit le même énantiomère de métabolite styrène glycol que la substance mère. Cependant, il ne s'agissait pas du seul métabolite. L'activité métabolique était légèrement supérieure pour l'énantiomère (*S*)-oxyde de styrène. L'ajout de glutathion réduit dans le milieu d'incubation a donné lieu à une augmentation de l'activité de l'époxyde hydrolase, ce qui serait associé à une diminution du stress oxydatif. Les cellules de Clara de souris CD-1 montrent ainsi la capacité de détoxification de l'oxyde de styrène (Carlson, 2000).

## Annexe 3 : Calcul de doses d'exposition correspondant à différents niveaux de risque de cancer

Étant donné qu'il n'y a pas d'études chez l'Homme permettant de relier directement les niveaux biologiques aux effets cancérigènes et qu'aucune VLEP n'est disponible en France pour l'oxyde de styrène, cette section vise à présenter une démarche possible pour établir la relation entre les niveaux biologiques d'adduits et les effets cancérigènes chez l'animal en considérant l'absence de seuil d'effet pour cette substance. Pour ce faire, l'identification d'une étude clé, la détermination d'un point de départ (POD) correspondant à une benchmark dose (BMD) puis l'extrapolation à l'humain, pour enfin estimer les niveaux d'adduits à partir de doses d'exposition constituent l'essentiel de la démarche présentée ci-dessous afin de déterminer une VLB.

Plusieurs études ont rapporté des effets cancérigènes à la suite d'une exposition à différentes doses d'oxyde de styrène (Lijinski *et al.* (1986), Maltoni *et al.* (1979), Dalbey *et al.* (1996), Cantoreggi *et al.* (1993), Conti *et al.* (1988)). Les effets cancérigènes ont été observés chez le rat et la souris généralement après exposition par gavage. Des tumeurs bénignes et malignes se sont développées dans l'estomac antérieur (préestomac) des deux espèces, quel que soit le sexe, et des tumeurs hépatocellulaires ont été observées chez les souris mâles (CIRC, 1994).

Parmi les études de cancérigénicité chez l'animal, celle de Conti *et al.* (1988) a rapporté des effets de cancérigénicité avec apparition de tumeurs pour des faibles doses (50 mg/kg/j). Cette étude a été réalisée avec 40 rats Sprague-Dawley par groupe, mâles et femelles, exposés à 50 ou 250 mg/kg d'oxyde de styrène par ingestion (ou contrôle), 4-5 j par semaine pendant 52 semaines. Une relation dose-effet a été observée pour le néoplasme du préestomac. Les auteurs rapportent que, dans le préestomac, l'oxyde de styrène produit des lésions précancéreuses (acanthoses et dysplasies), des papillomes et acanthomes et des carcinomes des cellules squameuses (*in situ* ou invasifs). Les conclusions de la réévaluation du potentiel cancérigène du styrène et de l'oxyde de styrène par le CIRC en 2019 ont pris en considération cette étude et le CIRC considère l'oxyde de styrène comme un contaminant génotoxique du fait des adduits à l'ADN qui sont générés et qui sont également en lien avec les effets cancérigènes observés. Cette étude a donc été identifiée comme étude clé à partir de laquelle un point de départ (POD basé sur une benchmark dose (BMD)) peut être déterminé afin de proposer, après modélisation et extrapolation, une VLB chez l'humain basée sur des niveaux de risques ( $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$ ).

**Tableau 7 : Fréquence d'apparition des effets cancérigènes du préestomac chez le rat, d'après l'étude de Conti *et al.* (1988)**

Group No.	Dose (mg/Kg)	Animals		Precursor Lesions <sup>a</sup>	Papillomas and Acanthomas	Squamous Cell Carcinomas		
		Sex	No. at Start			Total	<i>In situ</i>	Invasive
I	250	M	40	35.0	22.5	75.0	45.0	30.0
		F	40	25.0	12.5	82.5	47.5	35.0
		M + F	80	30.0	17.5	78.8	46.3	32.5
II	50	M	40	12.5	7.5	27.5	15.0	12.5
		F	40	17.5	7.5	20.0	17.5	2.5
		M + F	80	15.0	7.5	23.8	16.3	7.5
III	Olive oil (Control)	M	40	2.5	—	—	—	—
		F	40	5.0	—	—	—	—
		M + F	80	3.8	—	—	—	—

<sup>a</sup> Acanthosis and dysplasias.

### Démarche pour la détermination d'une benchmark dose (BMD)

La détermination de la BMD constitue la première étape pour déterminer un point de départ (POD) dans le but d'extrapoler aux faibles doses et d'estimer les doses d'exposition aux niveaux de risque de cancer  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$  et les niveaux d'adduits correspondants.

Les données de l'étude de Conti et al. (1988) ont été utilisées pour déterminer une BMD assortie d'une réponse (benchmark response (BMR)) fixée à 10% à l'aide du logiciel BMDS de l'US EPA<sup>15</sup>. Les paramètres choisis sont un modèle extra-risque de 10%, associé à intervalle de confiance à 95%. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 8 : Détermination des BMD correspondantes aux différents effets cancérogènes dans le préestomac chez le rat à partir de l'étude de Conti et al. (1988)**

Effet	Modèle	BMD <sub>10</sub> <sup>1</sup>	BMD <sub>10L95</sub> <sup>2</sup>	BMD <sub>10U95</sub> <sup>3</sup>	P value	AIC <sup>4</sup>
Lésions précancéreuses	Log-Logistic	48,51	32,85	87,48	0,3067	218,65
Papillomes et acanthomes	Log-Logistic	83,33	58,25	124,94	0,4169	137,43
Carcinomes des cellules squameuses	Log-Probit	31,99	24,94	38,33	0,9991	113,86

<sup>1</sup> : BMD<sub>10</sub> en mg/kg

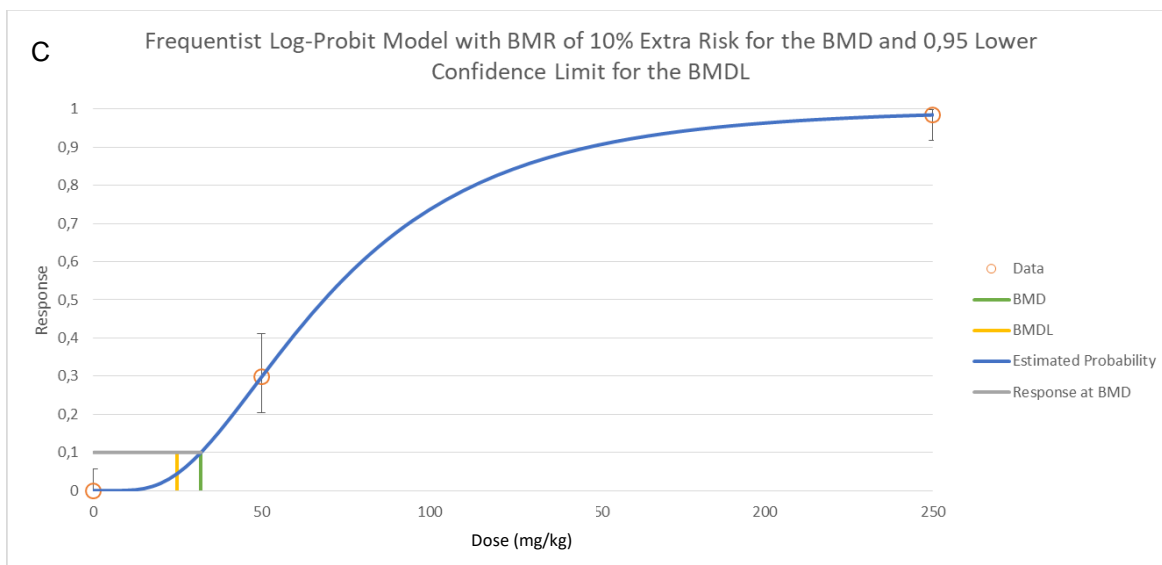
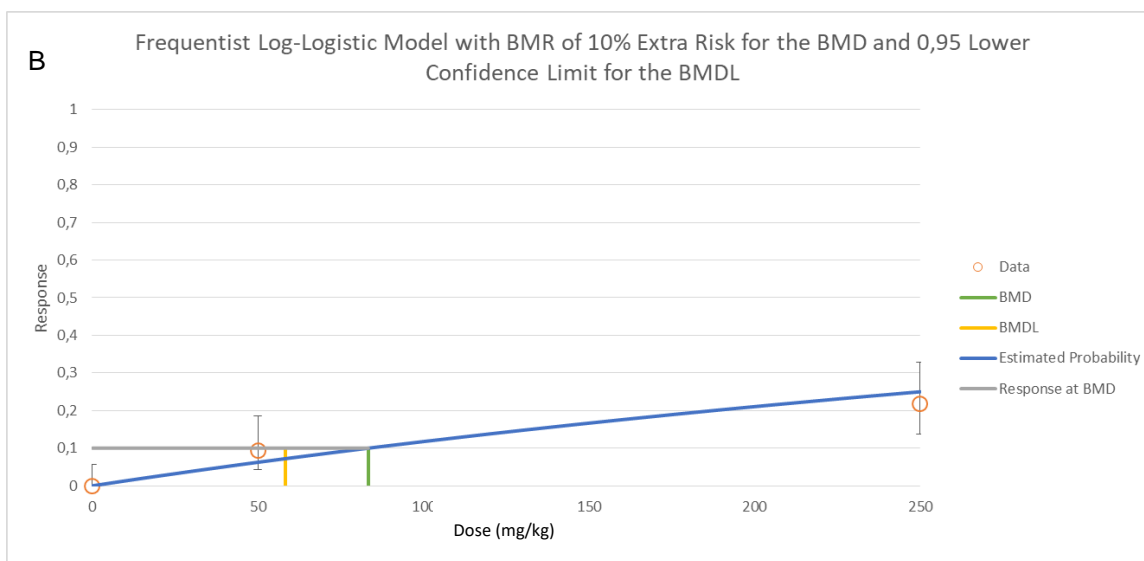
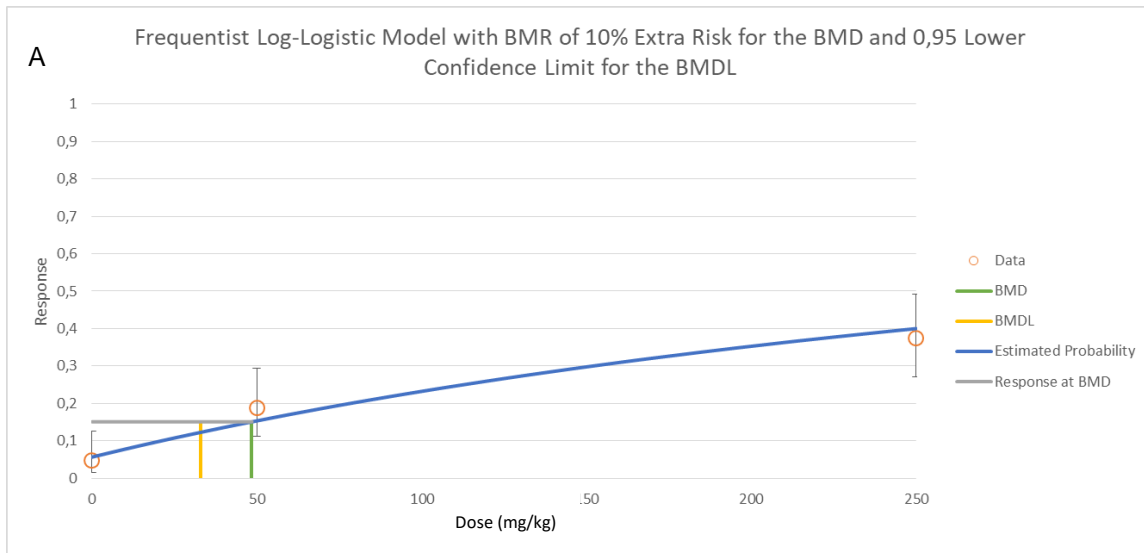
<sup>2</sup> : BMD<sub>10</sub> correspondant à la borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95%, en mg/kg

<sup>3</sup> : BMD<sub>10</sub> correspondant à la borne supérieure de l'intervalle de confiance à 95%, en mg/kg

<sup>4</sup> : AIC - Akaike's information criterion : permet d'évaluer la performance du modèle choisi

Les modèles retenus sont ceux qui étaient significatifs ( $p > 0,05$ ) et pour lesquels l'AIC (Akaike's information criterion) était la plus faible. Cependant, étant donné que ces BMD ont été contruites uniquement à partir de 2 doses d'exposition, en plus du groupe contrôle, il existe une incertitude sur les valeurs déterminées (BMD<sub>10L95</sub> de 25 à 58 mg/kg) et celles-ci sont à considérer avec beaucoup de précaution.

<sup>15</sup> U.S. EPA (Environmental Protection Agency), 2019. Benchmark Dose Software (BMDS) Version 3.1.1 National Center for Environmental Assessment. Available from: <https://www.epa.gov/bmds/download-benchmark-dose-software-bmds> (Accédé le 27/08/2019).



**Figure 3A, 2B et 2C : Modélisation des données de l'étude de Conti et al. (1988) pour l'estimation d'une BMD pour les effets cancérogènes dans le préestomac chez le rat (A : lésions précancéreuses, B : papillomes et acanthomes, C : carcinomes des cellules squameuses).**

**A- Calcul de doses d'exposition correspondant à différents niveaux de risque de cancer**

Dans le cas d'un cancérigène sans seuil, l'approche préconisée est celle de l'estimation des doses d'exposition correspondant aux différents niveaux de risque de cancer ( $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$ ).

Pour ce faire, en tenant compte de la même voie d'exposition (orale), il faut tout d'abord extrapoler la  $BMD_{10L95}$  à l'Homme en appliquant un facteur d'ajustement allométrique. L'objectif est de déterminer une dose équivalente humaine à partir de la dose retenue chez le rat. Cet ajustement allométrique peut être réalisé selon les recommandations de l'US EPA (US EPA, 2006) et permet d'estimer une dose journalière par voie orale chez l'Homme (DJAA\_voie orale), après application des facteurs d'ajustement. Les facteurs d'ajustement retenus ici sont :

- Facteur d'ajustement interespèce = 3,16 étant donné que la cinétique rat-humain est similaire (Csanady et al., 1994 ; Tornero-Velez et Rappaport, 2001)
- Facteur d'ajustement interindividuel = 5 (pour une population de travailleurs) ;

Le poids moyen du rat considéré est de 250 g, celui de l'Homme est estimé à 70 kg.

$$DJ_{AA\_voie\ orale\_Homme} = \frac{BMD_{10L95}}{FA_1 \times FA_5} \times \left( \frac{\text{Poids animal}}{\text{Poids Homme}} \right)^{1/4}$$

$$DJ_{AA\_voie\ orale\_Homme} = \frac{BMD_{10L95}}{5 \times 3,16} \times \left( \frac{0,25}{70} \right)^{1/4}$$

Étant donné que les rats ont été exposés 4/5 jours par semaine pendant 52 semaines, un ajustement temporel pour ajuster la dose par rapport à la durée de l'exposition professionnelle n'est pas nécessaire.

Considérant une extrapolation linéaire, la pente correspond au risque additionnel de cancer vie entière :

$$ER \text{ additionnel vie entière (unitaire)} = ERU = 0,1/DJ_{AA}$$

Sachant que l'excès de risque individuel est relié à l'excès de risque unitaire par la dose, il est ainsi possible de calculer les doses correspondant aux différents excès de risque individuels de  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$ .

$$ERI = ERU \times \text{dose} = ERU \times DJ_{AA}$$

$$DJ_{AA} = ERI/ERU$$

**Tableau 9 : Calcul de doses d'exposition correspondant aux niveaux de risque de cancer  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$**

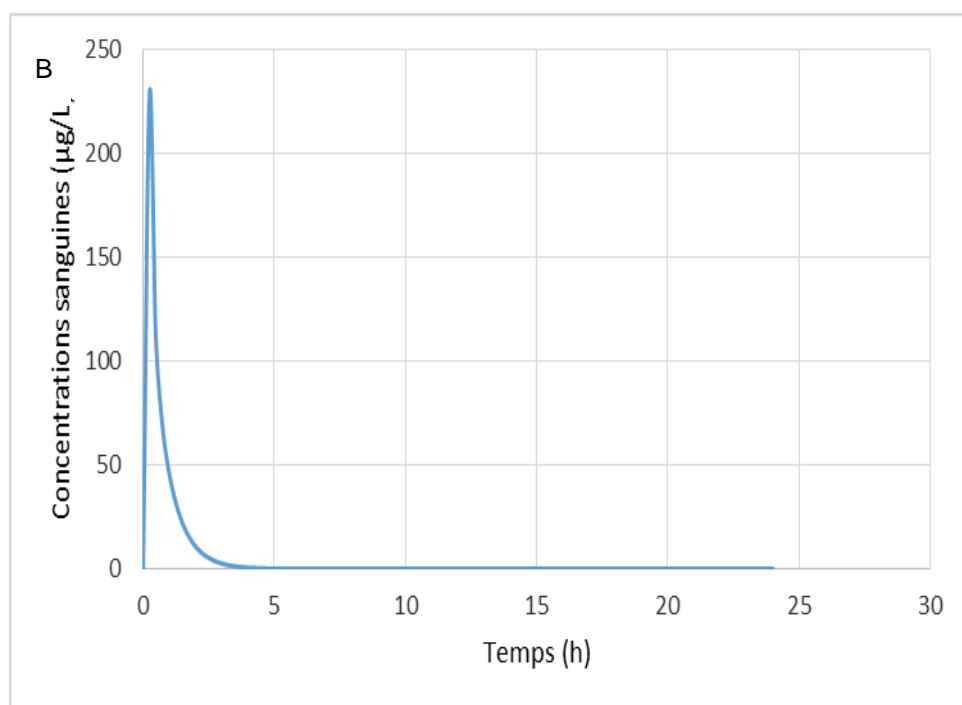
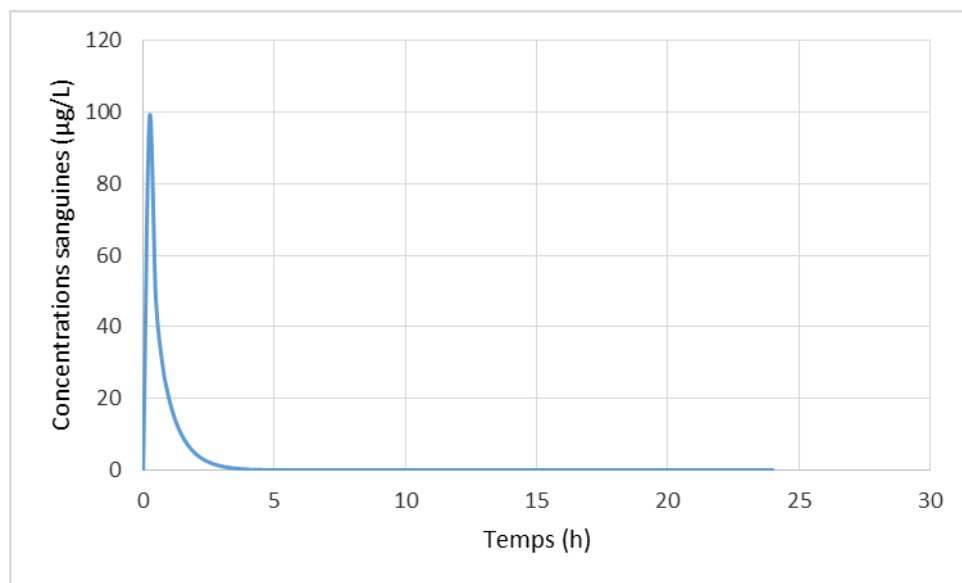
Effet	$BMD_{10L95}^1$ (mg.kg <sup>-1</sup> )	DJ_AA_voie orale_homme (mg.kg <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> )	DJ_AA pour ERI $10^{-4}$ (mg.kg <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> )	DJ_AA pour ERI $10^{-5}$ (mg.kg <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> )	DJ_AA pour ERI $10^{-6}$ (mg.kg <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> )
Lésions précancéreuses (Acanthoses et dysplasies)	32,85	0,508	$5,08 \times 10^{-4}$	$5,08 \times 10^{-5}$	$5,08 \times 10^{-6}$
Papillomes et acanthomes	58,25	0,901	$9,01 \times 10^{-4}$	$9,01 \times 10^{-5}$	$9,01 \times 10^{-6}$
Carcinomes des cellules squameuses	24,94	0,386	$3,86 \times 10^{-4}$	$3,86 \times 10^{-5}$	$3,86 \times 10^{-6}$

Estimation des niveaux d'adduits de l'oxyde de styrène à l'albumine et à l'ADN pour ces différents niveaux de risque de cancer

L'étape ultime consisterait ensuite à estimer le niveau d'adduits de l'oxyde de styrène à l'albumine ou à l'ADN correspondant à cette dose journalière pour les différents niveaux de risque. Cependant, l'absence de données reliant une dose d'exposition à un niveau d'adduits ne permet pas de proposer un IBE d'adduits de l'oxyde de styrène basé sur un niveau de risque. **Il n'est donc pas possible de proposer une VLB basée sur les niveaux d'adduits à partir des calculs d'excès des effets cancérigènes**

#### **B- Estimation de la concentration sanguine d'oxyde de styrène correspondante par modélisation PBPK**

Une autre approche consiste à utiliser le modèle PBPK de Csanady *et al.* (1994) pour déterminer la concentration sanguine d'oxyde de styrène correspondant à la BMD<sub>10L95</sub> déterminée pour les effets cancérigènes dans le préestomac. La simulation a été effectuée pour l'administration d'une dose orale d'oxyde de styrène de 25 à 58 mg/kg, selon les effets considérés, chez un rat de 250 g. Les résultats de modélisation montrent que le pic d'exposition est atteint après quelques minutes seulement (T<sub>max</sub> = 0,24 h) et la concentration maximale d'oxyde de styrène correspondante se situe entre 98 et 230 µg/L (C<sub>max</sub>).



**Figure 4A, 4B : Modélisation PBPK des concentrations sanguines d'oxyde de styrène correspondant à une exposition à une dose unique de 25 (A) ou 58 (B) mg/kg d'oxyde de styrène administrée chez le rat par voie orale**

La concentration sanguine d'oxyde de styrène chez l'humain peut ensuite être estimée à partir des concentrations sanguines d'oxyde de styrène chez le rat auxquelles des facteurs d'ajustement sont appliqués. Les facteurs à considérer sont :

- Facteur d'ajustement interespèce = 3,16 (qui ne tient compte de la composante toxicodynamique, car l'utilisation du modèle PBPK suggère que la cinétique est équivalente chez le rat et chez l'humain) ;
- Facteur d'ajustement interindividuel = 5 (pour une population de travailleurs).

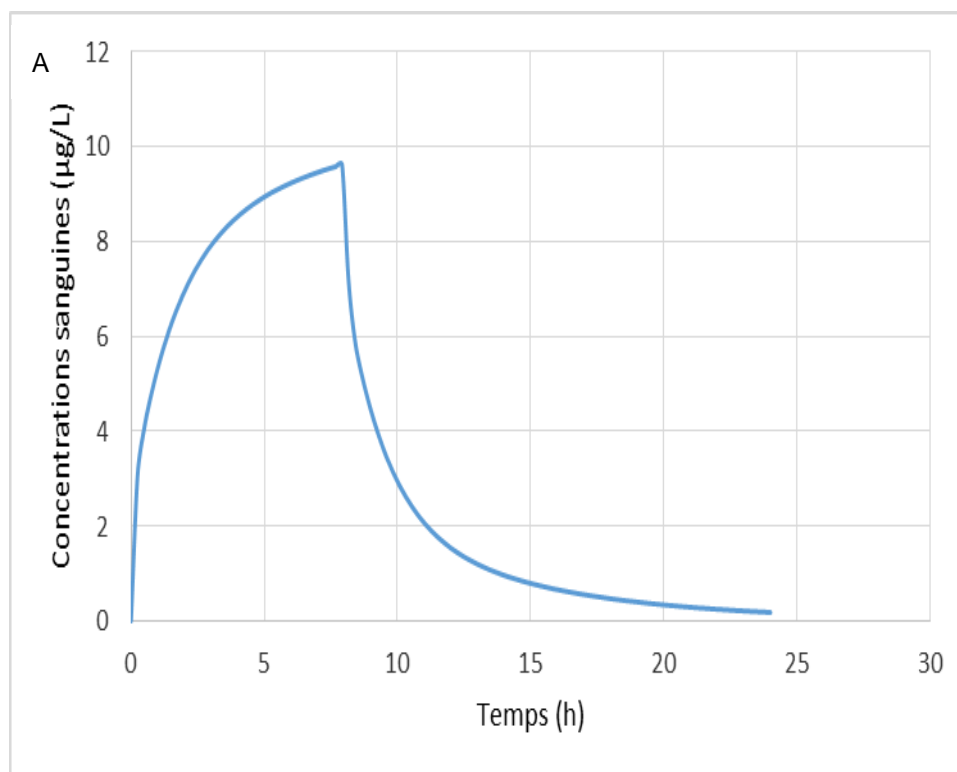
Ainsi, la concentration sanguine humaine correspondant à un excès de risque de 10% d'apparition d'effets cancérogènes se situe entre 6,2 µg/L et 14,6 µg/L respectivement pour le carcinome des cellules squameuses et le papillome et acanthome.

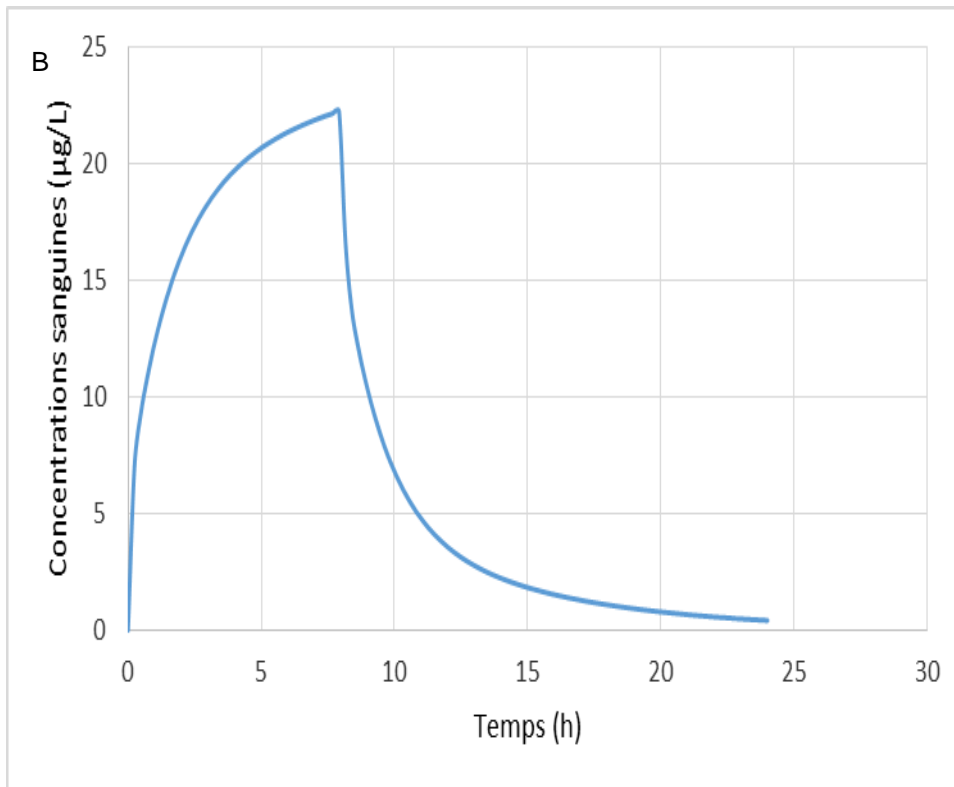


Cependant compte tenu de l'élimination rapide de l'oxyde de styrène dans le sang (demi-vie : 0,7 h (Rappaport et al., 1993)) et de l'incertitude entourant le calcul de la BMD à partir de deux doses seulement, cette approche n'est pas retenue.

### **Estimation de l'exposition équivalente à l'oxyde de styrène atmosphérique**

A partir de la modélisation PBPK, il est également possible de simuler sur 24h une exposition à l'oxyde de styrène atmosphérique par inhalation pendant 8 heures menant à la même aire sous la courbe (AUC) que celle correspondant à une dose unique de 25-58 mg/kg chez le rat exposé par voie orale. Dans ce cas, la concentration maximale d'oxyde de styrène sanguin varie de 9,6 à 22,2 µg/L, selon l'effet considéré (carcinome des cellules squameuses ou papillome et acanthome) (Figure 5). Les concentrations d'oxyde de styrène atmosphérique correspondantes varient de **0,9 à 2 ppm**.





**Figure 5A, 5B : Exposition à l'oxyde de styrène atmosphérique menant à la même AUC chez l'humain que pour une dose unique de 25-(A) 58 mg/kg (B) administrée chez le rat par voie orale**

## Annexe 4 : Position divergente

### Validation pour la consultation publique

#### Expert 1 et 2

Il a été proposé lors du CES VSR du 28 novembre 2019 d'inclure des tableaux en annexe du rapport portant sur l'oxyde de styrène-IBE. Ces tableaux concernaient des calculs de doses d'exposition correspondant à différents niveaux de risque de cancer réalisés à l'aide de la méthode de BMD.

Les auteurs précisent (§ 5.3.2) que, « l'absence de données reliant une dose d'exposition à un niveau d'adduits ne permet pas de proposer un IBE d'adduits de l'oxyde de styrène basé sur un niveau de risque »

De ce fait, il était clair que ces calculs ne pourraient aboutir à une conclusion. Il s'agit d'un exercice important qui serait intéressant de figurer dans un rapport de méthodologie. Mais, même en annexe, il ne nous semble pas approprié de les inclure dans un document mis à la consultation.

### Adoption finale

Un des experts, absent lors de la validation, a souhaité maintenir son abstention.

## **Annexe 5 : Consultation publique**

Ce rapport et les conclusions ont fait l'objet d'une consultation publique du 21/04/2020 au 21/05/2020.

Aucun commentaire n'a été reçu.

## Annexe 6 - Suivi des actualisations du rapport

Date	Version	Description de la modification
21/11/2019	01	Version pour consultation
25/06/2020	02	Version finale (pas de commentaire reçu ; ajout pour signaler la procédure de consultation et quelques précisions)



**anses**

**CONNAÎTRE, ÉVALUER, PROTÉGER**

AGENCE NATIONALE DE SÉCURITÉ SANITAIRE  
de l'alimentation, de l'environnement et du travail

14 rue Pierre et Marie Curie 94701 Maisons-Alfort Cedex  
Tél : 01 42 76 40 40  
[www.anses.fr](http://www.anses.fr) — @Anses\_fr