

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Constantine 3

Faculté de Médecine

Département de Pharmacie



**NIVEAUX D'EXPOSITION AU BISPHENOL A CHEZ LES
EMPLOYES D'UNE ENTREPRISE DE MATIERES PLASTIQUES ET
CHEZ DES SUJETS NON EXPOSES.**

RECHERCHE D'UN IMPACT SUR LA FERTILITE MASCULINE

THESE

Présentée pour l'obtention du diplôme de Doctorat
en Sciences Médicales

Spécialité : Toxicologie

Par

Iméne REBAI

Devant le jury composé de :

Pr REGGABI Mohamed	Faculté de Médecine d'Alger	Président
Pr AZZOUZ Mohamed	Faculté de Médecine d'Alger	Directeur
Pr BENMOHAMMED Karima	Faculté de Médecine de Constantine	Membre
Pr BOUSSOUF Nadir	Faculté de Médecine de Constantine	Membre
Pr DJAFER Rachid	Faculté de Médecine d'Annaba	Membre

Année universitaire

2019-2020

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Constantine 3

Faculté de Médecine

Département de Pharmacie



**NIVEAUX D'EXPOSITION AU BISPHENOL A CHEZ LES EMPLOYES
D'UNE ENTREPRISE DE MATIERES PLASTIQUES ET CHEZ DES
SUJETS NON EXPOSES.**

RECHERCHE D'UN IMPACT SUR LA FERTILITE MASCULINE

THESE

Présentée pour l'obtention du diplôme de Doctorat
en Sciences Médicales

Spécialité : Toxicologie

Par

Iméne REBAI

Devant le jury composé de :

Pr REGGABI Mohamed	Faculté de Médecine d'Alger	Président
Pr AZZOUZ Mohamed	Faculté de Médecine d'Alger	Directeur
Pr BENMOHAMMED Karima	Faculté de Médecine de Constantine	Membre
Pr BOUSSOUF Nadir	Faculté de Médecine de Constantine	Membre
Pr DJAFER Rachid	Faculté de Médecine d'Annaba	Membre

Année universitaire

2019-2020

REMERCIEMENTS

*A mon directeur de thèse,
Monsieur le professeur AZZOUZ Mohamed,
Professeur en Toxicologie*

Permettez-moi de vous exprimer ma profonde gratitude pour la confiance que vous m'avez accordée en acceptant de diriger ce travail, mais aussi, pour ce que vous m'avez apporté comme précieuse aide, pertinentes critiques et pour toutes les heures consacrées à affiner ce travail.

Monsieur, je vous suis et serai toujours reconnaissante pour tous les conseils que vous m'avez prodigués et pour tous les efforts que vous n'avez cessé de fournir pour faire aboutir ce travail.

Votre disponibilité permanente, votre haute compétence à avoir formé des générations de toxicologues et toutes vos qualités humaines resteront gravées dans ma mémoire car tout simplement je vous admire.

Recevez, Monsieur, l'expression de mon profond respect.

REMERCIEMENTS

*Président du jury,
Monsieur le Professeur REGGABI Mohamed,
Professeur en Toxicologie*

Je vous remercie, Monsieur le Professeur, pour m'avoir fait l'immense honneur de présider le jury de cette thèse.

Je vous suis reconnaissante pour tous vos sincères conseils sur le plan scientifique et humain ainsi qu'à vos judicieuses critiques durant notre formation.

Vos enseignements, votre rigueur scientifique et votre clairvoyance auront marqué résidents et enseignants de la toxicologie en Algérie. Merci pour vos incessants encouragements à faire évoluer et à valoriser le travail.

Veillez trouver ici, Monsieur, l'expression d'un hommage sincère.

REMERCIEMENTS

Membre du jury,

*Madame le professeur **BENMOHAMMED Karima***

Professeur en Endocrinologie

Madame le professeur, vous me faites l'honneur et le grand plaisir de juger ce travail.

Je vous suis très reconnaissante pour la sympathie que vous m'avez toujours témoignée ainsi que le grand intérêt que vous avez porté à ce travail dès le début.

Vos encouragements et vos recommandations scientifiques m'ont aidé à toujours faire mieux. J'ai la chance d'évoluer dans un cadre professionnel où exerce un professeur de votre rang.

Veillez accepter, Madame, toute ma grande estime pour tout ce que vous êtes.

REMERCIEMENTS

Membre du jury,

Monsieur le professeur BOUSSOUF Nadir

Professeur en Epidémiologie

Monsieur le professeur, vous me faites l'honneur et le grand plaisir de participer à l'évaluation de cette thèse.

Je vous remercie pour l'intérêt que vous avez manifesté à l'égard de ce travail mais aussi à ma formation au sein de notre faculté .Merci pour toutes vos remarques et commentaires qui m'ont permis d'améliorer ce travail.

Je vous suis reconnaissante pour vos encouragements et précieux conseils. Vos connaissances et hautes compétences scientifiques ont soutenu l'aboutissement de ce travail.

Veillez accepter, Monsieur, mes respects les plus distingués.

REMERCIEMENTS

Membre du jury,

Monsieur le professeur DJAFER Rachid

Professeur en Toxicologie

Je vous remercie, Monsieur le professeur, pour avoir accepté d'examiner et juger ce travail.

Je vous suis très reconnaissante pour la confiance et la sympathie que vous m'avez toujours témoignée. Vos encouragements et précieux conseils ont été un carburant pour ma persévérance à travailler.

Monsieur, c'est un honneur de vous compter parmi les toxicologues qui ont marqué mon devenir dans cette grande famille.

Veillez accepter, Monsieur, toute ma gratitude et mon profond respect pour votre disponibilité et présence à toute circonstance.

REMERCIEMENS

J'adresse mes vifs remerciements à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail ;

A mon maître, chez qui j'ai appris les premiers fondements de la toxicologie, Docteur **Belmahi Mohamed Habib**, chef de service de toxicologie, CHUC. Ses encouragements et sa présence qui n'ont d'égal, m'ont guidé tout le long de mon cursus universitaire et de ma vie professionnelle. J'espère qu'il trouvera dans ce travail, un hommage sincère et une profonde estime. Merci pour tout cher maître.

Docteur **Bader Ghania**, médecin du travail à l'EPSP Hamma Bouziane, son aide et son chaleureux accueil au sein de son service m'ont permis d'initier ce travail, je lui dois toute mon estime et ma gratitude. Je n'oublie pas tout le personnel de ce service, qui m'a témoigné sa sympathie et son aide.

Professeur **Ferdi Nadia**, directrice du laboratoire de médecine préventive des affections chroniques de la faculté de médecine de Constantine, son soutien et son incessante motivation m'ont beaucoup aidé à avancer.

Professeur **Benembarek Karima**, médecin chef du laboratoire de biochimie du CHU Constantine, sa précieuse aide à réaliser les dosages biochimiques de ce travail est d'une grande valeur ajoutée à ce travail.

Professeur **Lakehal Abdelhak**, Maître de conférences en épidémiologie au CHU Constantine, ses orientations scientifiques et son élaboration du protocole de recherche de cette étude sont à féliciter..

Professeur **Beddar Leila**, médecin chef du laboratoire d'anatomie pathologique, CHUC, son aide à réaliser et discuter la partie expérimentale m'a permis d'avancer dans mon travail. Je lui serai toujours reconnaissante.

Professeur **Fendri Allaoua Hichem**, médecin chef du laboratoire central de l'EHS Didouche Mourad, son aide à acquérir le matériel nécessaire pour la partie expérimentale de ce travail était plus que précieuse.

Professeur **Sekhri Abdel Hamid**, médecin chef du laboratoire d'histologie, CHUC, son aide à réaliser une phase de la partie expérimentale m'a permis d'avancer dans mon travail.

Merci à Mr Behaz Faycel, coordinateur en chef du laboratoire de toxicologie CHUC, à Mr Hazmoun Kamel, infirmier à l'EHS Mansourah, à Mr Makhloufi Hichem, infirmier à l'EHS Khroub, à Mr Ali pour toute l'aide technique apportée afin de réaliser ce travail.

Je remercie aussi, pour leur aide, Dr Gherbi Moufida, Dr Beghriche imene, mes étudiants : Bouchehda Maroua, Bouamrii Soheib, Boudrioua Iméne et Boudjemiel Selma

Mes remerciements vont aussi à mes amies : Dr **Benboudiaf Sabah**, MCB en toxicologie et Dr **Ayadi Amira** MA en pharmacologie, merci pour votre incessant soutien lors des moments de doute. Je vous souhaite tant de succès dans vos carrières professionnelles.

Enfin et avec beaucoup de tendresse, je remercie Dr **Boufalaas Rayane** et Melle **Bouhali Nedjla**, vous avez été présentes à toutes les étapes de ce travail et bien plus que votre aide pratique, votre soutien moral m'a accompagné durant toutes les périodes d'hésitation. Merci pour tout, petites sœurs, je vous souhaite un avenir radieux.

DEDICACES

A mes très chers parents ; aucune dédicace ne saurait exprimer la gratitude, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Puisse Dieu, le Tout Puissant vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

Papa tu m'as toujours guidé, soutenu et poussé à faire mieux, s'il y a bien une personne, telle l'épée de Damoclès sur ma tête, qui m'a quotidiennement martelé que la persévérance et le travail payent bien, c'est bien toi. Je te serai reconnaissante éternellement, je te dédie ce travail en témoignage de mon profond et éternel amour.

Maman, par les inestimables sacrifices que tu as consentis pour moi, tu as tant souhaité que je parvienne à ce but, je te dédie ce travail en témoignage de mon grand amour.

A mon cher mari, le Professeur Belaloui Idir, ton soutien moral, ton aide scientifique sans égal et ton profond attachement m'ont permis de réaliser ce rêve. Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements, ce travail n'aurait vu le jour. Reçois ce témoignage comme une reconnaissance de ma part.

A mes chers enfants, Yanis et Anais, c'est pour vous que je suis toujours à la recherche de l'excellence, ce travail sera une leçon pour vous : quand on veut on peut et on y arrive avec de la persévérance et de la détermination.

A mes chers frères Malik, Amine et Hamza, ainsi que leurs adorables petites familles, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. Je vous souhaite tout le bonheur du monde ainsi qu'une brillante carrière dans vos nobles domaines respectifs.

A mes beaux-parents, merci pour votre soutien et encouragement.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES.....	VIII
LISTE DES TABLEAUX.....	XI
LISTE DES ABREVIATIONS ET SIGLES.....	XIII
RESUMES.....	XVI
INTRODUCTION.....	01

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : PERTURBATEURS ENDOCRINIENS (PE)	06
I.1. Rappels généraux sur l'endocrinologie	06
I.1.1. Système endocrinien.....	06
I.1.2. Hormones.....	06
I.1.3. Récepteurs nucléaires.....	08
I.2. Perturbateurs endocriniens	10
I.2.1. Définition.....	10
I.2.2. Classification.....	10
I.2.3. Sources des perturbateurs endocriniens.....	12
I.2.4. Mécanisme d'action des perturbateurs endocriniens (PE).....	12
I.2.5. Principaux perturbateurs endocriniens.....	16
I.2.6. Voies d'exposition et effets généraux des perturbateurs endocriniens.....	20
I.2.7. Notions sur la relation période d'exposition, dose, effets des PE.....	21
I.2.8. Détection et identification des PE.....	22
CHAPITRE II : BISPHENOL A (BPA)	26
II.1. Définition	26
II.1.1. Structure chimique.....	26
II.1.2. Synthèse chimique.....	26
II.1.3. Propriétés physico-chimiques du BPA.....	27
II.2. Utilisation/Production du BPA	28

II.2.1. Polycarbonates.....	29
II.2.2. Résines époxy.....	29
II.2.3. Autres utilisations du BPA et dérivés du BPA.....	30
II.3. Sources et voies d'exposition humaine au BPA.....	31
II.3.1. Dissémination du BPA dans l'environnement.....	31
II.3.2. Photodégradation du bisphénol A.....	31
II.3.3. Contamination humaine par le BPA.....	32
II.4. Mesures réglementaires.....	38
II.5. Toxicocinétique du BPA.....	41
II.5.1. Absorption.....	41
II.5. 2. Distribution.....	41
II.5. 3. Métabolisme.....	42
II.5. 4. Élimination.....	43
II.6. Mécanisme d'action du BPA.....	44
II.6.1. Activité œstrogénique.....	45
II.6.2. Activité anti androgénique.....	46
II.6.3. Autres activités (antithyroïdienne et sur l'ADN).....	46
II.7. Impact de l'exposition au BPA sur la santé humaine.....	48
II.7.1. Maladies métaboliques.....	48
II.7.2. Développement.....	50
II.7.3. Système immunitaire.....	51
II.7.4. Cancer hormono-dépendant.....	51
II.7.5. Reproduction.....	54
II.8. Détection et dosage toxicologique du BPA.....	57
II.8.1. Études de bio surveillance.....	57
II.8.2. Méthodes de dosage.....	58
II.9. Alternatives/analogues du BPA.....	59
II.9.1. Problématique des additifs chimiques dans le plastique.....	59

II.9.2. Analogues du BPA.....	65
CHAPITRE III : FERTILITE MASCULINE.....	70
III.1. Définitions.....	70
III.1.1. Fertilité.....	70
III.1.2. Infertilité.....	70
III.2. Épidémiologie.....	70
III.3. Rappel anatomo-physiologique.....	71
III.3.1. Axe hypothalamo -hypophyso-testiculaire.....	71
III.3.2. Testostérone.....	72
III.3.3. Spermatogénèse.....	76
III.3.4. Voies génitales.....	78
III.4. Étiologies de l'infertilité masculine.....	79
III.4.1. Infertilités obstructives.....	79
III.4.2. Anomalies congénitales.....	79
III.4.3. Obstructions post Infectieuses.....	80
III.4.4. Obstructions iatrogènes.....	80
III.4.5. Troubles de la spermatogénèse.....	80
III.4.6. Causes endocriniennes.....	80
III.4.7. Causes testiculaires.....	81
III.4.8. Altérations extrinsèques de SPZ.....	82
III.4.9. Troubles de l'éjaculation.....	82
III.5. Bilan d'une infertilité masculine.....	82
III.5.1. Interrogatoire.....	82
III.5.2. Examen clinique.....	83
III.5.3. Examens complémentaires.....	83
CHAPITRE IV : IMPACT DE L'EXPOSITION AU BPA SUR LA FERTILITE	
MASCULINE.....	86

IV.1. Études épidémiologiques chez l'homme	86
IV.2. Etudes <i>in vivo/ in vitro</i>	91
IV.2.1. Exposition pendant la gestation et la lactation.....	91
IV.2.2. Exposition pubertaire.....	92
IV.2.3. Exposition à l'âge adulte.....	92
IV.3. Exposition en milieu professionnel	93
IV.3.1. Contexte professionnel de l'exposition dans l'industrie du plastique.....	93
IV.3.2. Études réalisées en milieu professionnel sur l'exposition au BPA.....	94
PARTIE PRATIQUE	
S-PARTIE 1/ ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE : EXPOSITION PROFESSIONNELLE AU BISPHENOL A	98
CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES	101
I.1. Protocole de l'étude épidémiologique	101
I.1.1. Population à étudier.....	101
I.1.2. Critères de sélection.....	101
I.1.3. Paramètres à étudier.....	102
I.1.4. Fiche de renseignement.....	102
I.1.5. Modalités de prélèvement.....	103
I.1.6. Techniques de dosage des paramètres biologiques et toxicologiques.....	103
I.1.7. Réactifs.....	103
I.1.8. Matériel consommable.....	104
I.1.9. Appareillage.....	104
I.2. Dosage du bisphénol A et ses analogues par GC-MS	105
I.2.1. Préparation et stockage des solutions.....	105
I.2.2. Conditions opératoires de l'équipement GC-MS.....	106
I.2.3. Optimisation des conditions d'extraction et de dérivatisation.....	107
I.2.4. Optimisation des conditions chromatographiques.....	116
I.2.5. Validation analytique du dosage du BPA et ses analogues par GC-MS.....	119

I.3. Traitement statistique des données	130
CHAPITRE II : RESULTATS	131
II.1. Population professionnellement exposée au BPA	131
II.1.1. Données socio -médico-démographiques.....	131
II.1.2. Données professionnelles.....	135
II.1.3. Données biologiques et toxicologiques.....	138
II.1.4. Données statistiques.....	143
II.1.4.1. Données de corrélation.....	143
II.1.4.2. Données comparatives.....	147
II.2. Population non professionnellement exposée au BPA	159
II.2.1. Données socio -médico-démographiques.....	159
II.2.2. Données biologiques et toxicologiques.....	161
II.2.3. Données statistiques.....	166
II.2.3.1. Données de corrélation.....	166
II.2.3.2. Données comparatives	167
II.3. Données et statistiques comparatives des deux groupes de travailleurs	172
II.3.1. Comparaison des médianes.....	172
II.3.2. Comparaison des moyennes.....	173
II.3.3. Comparaison des effectifs (pourcentages).....	175
II.4. Estimation de l'odds ratio	177
II.5. Résumé des résultats de l'étude épidémiologique	179
CHAPITRE III : DISCUSSION	181
III.1. Niveaux d'exposition au BPA et ses analogues	183
III.1.1. Niveaux d'exposition au BPA.....	183
III.1.2. Niveaux d'exposition aux analogues du BPA.....	186
III.1.3. Donnés de l'exposition professionnelle.....	187
III.1.4. Facteurs d'influence.....	193
III.2. Impact de l'exposition au BPA sur la santé	197

III.2.1. Bilan biologique.....	197
III.2.2. Qualité spermatique.....	204
III.2.3. Fonction sexuelle.....	204
III.3. Risque de l'exposition au BPA chez les travailleurs professionnellement exposés.....	205
III.3.1. Données comparatives des deux groupes de travailleurs	205
III.3.2. Risque de l'exposition.....	211
III.4. Atouts et limites de l'étude	216
CONCLUSION	217
S-PARTIE 2/ ÉTUDE EXPERIMENTALE	218
CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES	220
I.1. Sujets.....	221
I.1.1. Effectif.....	221
I.1.2. Conditionnement et chronologie opératoire.....	221
I.2. Réactifs.....	222
I.3. Matériel	222
I.4. Préparation des solutions de BPA à administrer	224
I.5. Paramètres à étudier.....	225
I.6. Prélèvements.....	225
I.7. Techniques analytiques.....	227
I.7.1. Poids des organes reproducteurs.....	227
I.7.2. Mesure du nombre de spermatozoïdes.....	227
I.7.3. Étude histo-anatomopathologique des coupes d'organe.....	227
I.7.4. Dosage hormonal.....	230
I.7.5. Analyse des résultats.....	230
CHAPITRE II: Résultats.....	231
II.1. Observations avant sacrifice.....	231
II.2. Poids des organes reproducteurs mâles.....	232
II. 3. Numération des spermatozoïdes.....	236

II.4. Impact sur la fertilité (nombre de femelles gravides et points d'implantation).....	237
II.5. Dosage hormonal	240
II.6. Étude histologique des organes reproducteurs mâles	241
II.6.1. Étude histologique des testicules.....	241
II.6.2. Étude histologique des vésicules séminales.....	243
CHAPITRE III: DISCUSSION	245
III.1. Poids total	245
III.2. Poids des organes reproducteurs	246
III.3. Effet du BPA sur la fertilité (nombre de femelles gravides/points d'implantation et numération spermatique)	247
III.4. Taux hormonaux	249
III.5. Étude histologique des organes reproducteurs mâles	250
III.6. Récapitulatif des études relatives aux effets du BPA sur la reproduction	250
CONCLUSION	254
CONCLUSION GENERALE	256
BIBLIOGRAPHIE	261
ANNEXES	290
Annexe 1 : Déclaration de conformité aux règles d'éthique	
Annexe 2 : Fiche de renseignements médicaux et professionnels accompagnant l'échantillon dans le cadre de la biométrie du BPA	

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Glandes endocrines chez l'être humain	06
02	Mécanisme général de traduction du signal par les récepteurs nucléaires	08
03	Sous-types (2) de récepteurs aux estrogènes identifiés chez l'Homme	09
04	Activation du récepteur des œstrogènes	13
05	Structure chimique de base des isoflavones	16
06	Structures chimiques des stéroïdes sexuels naturels	16
07	Structure chimique l'éthinylestradiol	17
08	Formule chimique des PCB	17
09	Formules chimiques des PCDD et PCDF	18
10	Formule chimique du DDT	19
11	Formule chimique du HCB	19
12	Structure chimique du Dicarboximide-vinclozolin	19
13	Structure chimique du nonylphénol	19
14	Structure générale des phtalates	20
15	Formule chimique du BPA	26
16	Synthèse chimique du BPA	26
17	Principaux usages du BPA	29
18	Structure chimique des plastiques de type polycarbonate	29
19	Structure chimique des résines époxy-phénoliques.	30
20	Différents cas de figure à l'origine de l'exposition interne humaine au BPA	37
21	Évolution des réglementations mises en place visant à réduire l'utilisation du BPA	39
22	Différentes voies de métabolisme chez les mammifères	42
23	Formules chimiques du bisphénol A et de l'œstradiol.	45
24	Résumé en schéma du mécanisme d'action toxique du BPA et l'impact sur la santé humaine	47
25	Cycle de vie du plastique	60
26	Structure chimique de 16 analogues du BPA	66
27	Axe hypothalamo -hypophyso-testiculaire et rétrocontrôles	72
28	Boucles de contrôle de l'axe hypothalamo - hypophyso-testiculaire	75
29	Activités tissulaires et fonctionnelles spécifiques de la testostérone et de ses principaux métabolites	76
30	Histologie du tube séminifère contourné	77
31	Etapes de la spermatogenèse.	78
32	Testicule et épидidyme	79
33	Chromatographie en phase gazeuse à détecteur de masse 6890 (Agilent®)	105
34	Schéma explicatif du commutateur Deans système GC-MS	106
35	Optimisation de la dérivation en fonction du volume de l'anhydride acétique	109
36	Comparaison des moyennes des pics de réponse des solvants dispersifs	110
37	DLLME /GC - MS chromatogrammes (full scan) d'extraits d'urine utilisant différents solvants d'extraction	111
38	Réponse (surface maximale) en fonction du volume de solvant d'extraction.	112
39	Chromatogramme ionique total (TIC) de 8 bisphénols à 1 mg/l en utilisant différents agents de dérivation testés	113
40	Etapes de prétraitement des échantillons urinaires (DLLME)	115
41	Dosage du BPA total. Préparation des échantillons urinaires par déconjugaison	115
42	Chromatogramme ionique total (TIC) d'un échantillon d'urine humaine N° 55	118
43	Courbe de calibration du BPA	119
44	Courbe de calibration du BPB	120
45	Courbe de calibration du BPS	120
46	Courbe de calibration du BPZ	120

47	Courbe de calibration du BPAP	121
48	Courbe de calibration du BPF	121
49	Courbe de calibration du BPE	121
50	Courbe de calibration du BPAF	122
51	Chromatogramme d'un blanc matrice contenant l'étalon interne BPA d16	123
52	Profil d'exactitude des huit bisphénols.	126-127
53	Répartition des sujets exposés en fonction de l'âge	131
54	Répartition des sujets exposés en fonction de l'IMC	132
55	Répartition des sujets exposés en fonction du nombre d'enfants	132
56	Répartition des sujets exposés en fonction du tabagisme et de l'alcoolisme	133
57	Répartition des sujets exposés en fonction des particularités d'ordre sexuel	135
58	Répartition des sujets exposés en fonction du poste occupé	135
59	Répartition des sujets exposés en fonction des années d'expérience	136
60	Répartition des sujets exposés en fonction des horaires de travail	136
61	Répartition des sujets exposés en fonction du moment du prélèvement /semaine	137
62	Répartition des sujets exposés en fonction du taux de FSH	139
63	Répartition des sujets exposés en fonction du taux de LH	140
64	Répartition des sujets exposés en fonction du taux de testostérone	140
65a	Corrélation entre les taux de BPA libre et l'âge .Sujets exposés	145
65b	Corrélation entre les taux détectés de BPA libre et l'âge .Sujets exposés	145
66	Corrélation entre les taux de BPA total et les taux de FSH. Sujets exposés	146
67	Corrélation entre les taux de BPA total et les taux de BPA libre. Sujets exposés	146
68	Corrélation entre les taux urinaires de BPA total et le taux de BPA libre ajustés. Sujets exposés	146
69	Taux du BPA total en fonction des tranches d'âge. Sujets exposés	150
70	Taux du BPA total en fonction des postes occupés. Sujets exposés	152
71	Taux du BPA total en fonction des années d'expérience. Sujets exposés	152
72	Répartition des sujets non exposés en fonction de l'âge	159
73	Répartition des sujets non exposés en fonction de la masse corporelle	160
74	Répartition des sujets non exposés en fonction des nombre d'enfants	160
75	Répartition des sujets non exposés en fonction du tabagisme et de l'alcoolisme	161
76	Répartition des sujets non exposés en fonction du taux de FSH	163
77	Répartition des sujets non exposés en fonction du taux de LH	163
78	Répartition des sujets non exposés en fonction du taux de testostérone	164
79	Courbe ROC. Détermination du seuil d'années de travail correspondant aux taux de BPA élevés. Travailleurs exposés	190
80	Distribution des taux de BPA total ($\mu\text{g/L}$) chez les travailleurs	206
81	Distribution des taux de BPA total ajusté ($\mu\text{g/g}$) chez les travailleurs	206
82	Distribution de la glycémie à jeun .Travailleurs exposés et sujets non exposés au BPA	207
83	Distribution du taux de triglycérides. Travailleurs exposés et sujets non exposés au BPA	208
84	Distribution du taux de plaquettes sanguines. Travailleurs exposés et sujets non exposés au BPA sanguines	209
85	Distribution des taux de FSH. Travailleurs exposés et sujets non exposés au BPA	210
86	Distribution des taux de LH. Travailleurs exposés et sujets non exposés au BPA	210
87	Distribution du taux de testostérone. Travailleurs exposés et sujets non exposés au BPA	211
88	Matériels ayant servi à l'étude expérimentale	223
89	Dissection de la souris	226
90	Prélèvement rétrobulbaire de la souris	226
91	Etapas de l'étude histo-anapathologique des organes reproducteurs mâles	229
92	Taux relatifs d'accroissement du poids des cinq lots des souris, à J30	232
93	Anatomie de l'appareil reproducteur d'une souris mâle disséquée	233

94	Poids moyens relatifs au poids corporel à J30 des organes reproducteurs mâles. Cinq lots de souris	234
95	Taille des testicules et des vésicules séminales, chez une souris, par lot	235
96	Numération spermatique des cinq lots de souris	236
97	Schéma démonstratif du comptage des SPZ à l'aide d'une cellule de Thoma	237
98	Nombre de souris gravides et de points d'implantations. Lot témoin et lots de souris exposées au BPA	238
99	Femelles disséquées .Lot 1 témoin	239
100	Femelles disséquées. Lot 2, exposé à 25 µg/kg/j	239
101	Femelles disséquées. Lot 3, exposé à 50 µg/kg/j	239
102	Femelles disséquées. Lot 4, exposé à 500 µg/kg/j	239
103	Femelles disséquées. Lot 5, exposé à 1000 µg/kg/j	239
104	Taux de testostérone, de FSH et de LH. . Lot témoin et lots de souris exposées au BPA	240
105	Coupe transversale d'un tube séminifère de testicule de souris adulte (10x20)	241
106	Micrographie de coupe histologique au niveau du testicule, colorée à l'hémalun-éosine G (10x10). Cinq lots de souris	242
107	Coupe transversale d'une vésicule séminale de souris adulte (10x40)	243
108	Micrographie de coupe histologique au niveau des vésicules, colorée à l'hémalun-éosine G (10x10) séminales. Cinq lots de souris	244

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Différentes catégories d'hormones	7
02	Fonctions nécessitant l'action d'hormones	7
03	Perturbateurs endocriniens potentiels utilisés dans les produits cosmétiques	11
04	Principales sources des perturbateurs endocriniens	12
05	Périodes de danger d'expositions aux PE	21
06	Propriétés physico-chimiques du BPA	27
07	Principales sources d'exposition au BPA. Taux rapportés dans la littérature	32
08	Notions et valeurs définies par les autorités sanitaires européennes nécessaires à la compréhension de la réglementation concernant l'utilisation et l'exposition du BPA	40
09	Liste des dernières études d'impact de l'exposition au BPA sur la santé humaine	55
10	Revue de récentes études de bio surveillance de l'exposition au BPA, chez la population générale	59
11	Description des additifs majoritaires dans les matériaux plastiques	62
12	Liste des alternatives au BPA	65
13	Facteurs d'infertilité masculine chez des patients	71
14	Paramètres de faisabilité d'un spermogramme	83
15	Normes anciennes et actuelles du spermogramme	84
16	Anomalies du spermogramme	84
17	Impact de l'exposition au BPA sur la fertilité masculine humaine. Principales études épidémiologiques	88
18	Exposition au BPA en milieu professionnel	95
19	Temps de rétention des huit bisphénols et du BPA d16	107
20	Résumé des conditions d'extraction et de dérivatisation	114
21	Conditions chromatographiques et de détection SM	117
22	Calcul des concentrations de la courbe de calibration des huit bisphénols	119
23	Limite de détection et de quantification des huit bisphénols	124
24	Répétabilité aux trois niveaux de bisphénols (% RSD)	125
25	Rendement d'extraction et effet matrice aux trois niveaux de bisphénols	129
26	Performances analytiques du dosage des huit bisphénols	130
27	Etat de santé des enfants des travailleurs professionnellement exposés	133
28	Etat de santé des travailleurs professionnellement exposés	134
29	Taux urinaires de BPA total et libre et de BPB total, chez les sujets professionnellement exposés	142
30	Données de corrélation (Pearson) entre les taux urinaires de BPA et les différentes variables d'intérêt. Groupe exposé	144
31	Données comparatives des moyennes de BPA total en fonction des variables sociodémographiques, biologiques et professionnels. Groupe exposé	147
32	Distribution des taux quartiles de BPA total en fonction des groupes sociodémographiques, biologiques et professionnels. Groupe exposé	155
33	Taux urinaire de BPA total des sujets présentant un antécédent médical. Groupe exposé	158
34	Taux bruts et corrigés de BPA total et libre. Sujets non exposés	165
35	Données de corrélation (Pearson) entre les taux urinaires de BPA et les différentes variables d'intérêt. Sujets non exposés	166
36	Données comparatives des moyennes de BPA total en fonction des variables sociodémographiques et biologiques. Groupe témoin	167
37	Distribution des taux quartiles de BPA total en fonction des variables sociodémographiques et biologiques. Sujets non exposés	169
38	Paramètres comparatifs des quartiles chez les travailleurs exposés et non exposés	172

39	Paramètres comparatifs des moyennes chez les travailleurs exposés et non exposés	174
40	Données descriptives des effectifs des deux groupes de travailleurs. Facteurs de risque et facteur d'exposition générale	175
41	Dysfonctionnement biologique. Sujets exposés et non exposés. Effectif et pourcentages	176
42	Interprétation des valeurs de l'Odd Ratio	177
43	Risque de survenue de dysfonctionnements biologiques / Sujets exposés et non exposés. Odds Ratio, intervalle de confiance à 95%	178
44	Résumé des résultats de l'étude épidémiologique	179
45	Niveaux d'exposition professionnelle au BPA. Etudes de la littérature	183
46	Taux urinaires de BPA dans la population générale	185
47	Exposition professionnelle au BPA, en relation avec le poste de travail Industrie du plastique	188
48	Principaux agents chimiques associés à la co-exposition en milieu professionnel	192
49	Odds ratio : pathologies associées aux taux élevées de BPA	215
50	Solutions de BPA à administrer pour chaque lot	224
51	Poids moyens des souris mâles à J1, J15, J30	231
52	Poids moyen absolu et relatif, au poids corporel, des testicules, de l'épididyme, des vésicules séminales et de la prostate ventrale	233
53	Numération moyenne des spermatozoïdes. Cinq lots de souris	236
54	Nombre de femelles gravides et de points d'implantation	237
55	Taux moyens de testostérone, de LH et de FSH. Lots de souris témoins et exposées	240
56	Observations histologiques des testicules	241
57	Observations histologiques des vésicules séminales	243
58	Effets du bisphénol A sur l'appareil reproducteur mâle. Tableau récapitulatif des études animales	252

Liste des abréviations et sigles

AA	Anhydride Acétique
ABS	ABS
AC	Acétone
ACTH	Adrénocorticotrophique Hormone
ADN	Acide DésoxyRibonucléique
AhR	Récepteur à l'ArylHydrocarbure
ALAT	Alanine AminoTransférase
AMPc	Adénosine MonoPhosphate cyclique
ANSES	Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du travail
APE	Ethoxylate d'Alkyl Phénol
AR	Récepteur aux Androgènes
ASAT	Aspartate AminoTransférase
ARN	Acide RiboNucléique
BADGE	Bisphénol A diglycidyl ether
Bis-DMA	Bisphénol-A-glycidyl-di méthacrylate
Bis-GMA	Bisphénol-A-glycidyl-méthacrylate
BPA	Bisphénol A
BPA-G	BPA - Glucuronide
BPA-S	Bisphénol Sulfate
BPAF	Bisphénol AF
BPAP	Bisphénol AP
BPB	Bisphénol B
BPE	Bisphénol E
BPF	Bisphénol F
BPS	Bisphénol S
BPZ	Bisphénol Z
CAR	Constitutive androstanereceptor
CB	ChloroBenzène
CDC	Centers for Disease Control and prevention
CFTR	Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator
CIRC	Centre International de Recherche sur le Cancer
CL	Chromatographie en phase Liquide
CLP	Classification, Labelling, Packaging
CMV	CytoMégaloVirus
CYP	Cytochromes P450
DAG	Diacylglycérol
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
DES	DiEthylStilbestrol
DHEA	DiHydroEpiandrostérone
DHT	DiHydro Testostérone
DJA	Dose Journalière Admissible
DL	Dose Limite
DLLME	Dispersive Liquid Liquid MicroExtraction
E2	Oestradiol
ECD	Détecteur à capture d'électrons
EE2	Ethinylestradiol
EFSA	European Food Safety Authority
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

ER	Récepteur aux œstrogènes
ERE	Elément de réponse à l'œstradiol
ERR	Estrogen Related Receptor
FAI	Free androgen indicator
FIV	Fécondation <i>In Vitro</i>
FSH	Follicule-Stimulating Hormone ou hormone folliculo-stimulante
GC	Chromatographie en phase Gazeuse
GC-MS	Chromatographie en phase Gazeuse à détecteur de Spectrométrie de Masse
GH	Growth Hormone
GnRH	Gonadotrophin Releasing Hormone
GPR	Récepteur transmembranaire couplé à la Protéine G
GR	Récepteur aux Glucocorticoïdes
HAP	Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
HbA1c	Hémoglobine Glyquée
HCB	Hexachlorobenzène
HCG	Gonadotrophine Chorionique Humaine
HPLC	Chromatographie Liquide à Haute Performance
IMC	Indice de Masse Corporelle
INRS	Institut National de Recherche et de Sécurité
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LD	Limite de détection
LDL	Low Density Lipoprotein
LH	Luteinizing Hormone ou Hormone Lutéinisante
LH-R	Luteinizing Hormone Receptor
LHRH	Luteinizing Hormone-Releasing Hormone
Lms	Limite de Migration Spécifique
LOAEL	Low Observed Adverse Effect Level
LQ	Limite de quantification
MAP	Mitogen Activated Protein
Me CN	Acétonitrile
MeOH	Méthanol
MMP	Métallo Protéinases Matricielles
MS	Spectrométrie de Masse
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level
NR	Récepteur Nucléaire
NTSR	Récepteur à la neurotensine
OATS	Oligoasthénospermie
OCDE	Organisation de coopération et du développement économique
PB-PK	Physiologically Based Pharmacokinetic
PCB	PolyChloroBiphényles
PCDF	PolyChloroDibenzo-Furanes
PE	Perturbateurs Endocriniens
PET	PolyÉthylène
pH	Potentiel Hydrogène
Pka	Constante de dissociation acide
PND	Post Natal Day
POCIS	Polar Organic Compounds Integrative Samples
PPAR	Proliférateur de peroxyosome activé
PS	Polystyrène

PVC	PolyChlorure de Vinyle
PXR	Pregnan X Receptor
RAR	Récepteur à l'acide rétinolique
REACH	Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals
RIA	Radio Immuno Assay
RSD	Relative Standard Deviation
RXP	Récepteurs aux rétinoïdes totaux
SAFEC	Société Algérienne de Fertilité Et de Contraception
SERM	Modulateurs Sélectifs des Récepteurs aux œstrogènes.
SHBG	Sex Hormone-Binding Globulin
SIA	Syndrome d'Insensibilité aux Androgènes
SIM	Selected Ion Monitoring
SPE	Solid Phase Extraction
SPMD	Semi Permeable Membrane Device
SPZ	Spermatozoïdes
SULT	Sulfo-Transférases
SVHC	Substance of Very High Concern
T4CE	Tétrachloroéthylène
TCDD	TétraChloroDibenzo-p-Dioxine
TeBG	Testostérone binding-globulin
TIC	Chromatogramme ionique total
TNF α	Tumor Necrosis Factor
TR	Récepteurs thyroïdiens
TSH	Thyroid Stimulating Hormon
UDP	Uridine 5'-diphosphate
UGT	GlucuronosylTransferase
UV	UltraViolet
VDR	Récepteur à la vitamine D
VLEP	Valeur Limite d'Exposition Professionnelle

Résumé

Objectif : Les perturbations endocriniennes de type reproductif augmentent de façon alarmante à travers le monde. La société algérienne de fertilité et de contraception indique que l'infertilité, en Algérie, est en nette augmentation puisqu'elle passe de 15 % à 20 %. Aujourd'hui, les conclusions scientifiques selon lesquelles l'exposition aux perturbateurs endocriniens et plus particulièrement le bisphénol A (BPA), convergent toutes sur l'implication, de façon sûre, de ces molécules au développement de problèmes d'infertilité.

Ce travail a porté sur deux études, une étude épidémiologique et une étude expérimentale. L'étude épidémiologique avait pour objectif, l'évaluation du niveau d'exposition au BPA chez des travailleurs de l'industrie du plastique, ainsi que la recherche d'association entre les niveaux de BPA et l'impact sur la santé reproductive des sujets. L'étude expérimentale avait pour objectif d'évaluer les effets de l'exposition au BPA, sur les performances de reproduction, chez des souris swiss mâles.

Méthodes : L'étude épidémiologique a été menée, principalement, chez 170 employés dans une industrie du plastique. Un questionnaire a été adressé à chacun des sujets en vue de collecter diverses informations sociodémographiques et professionnelles. Un prélèvement sanguin et urinaire a été effectué, destiné à la détermination des paramètres biologiques (sang) et des taux de BPA (urine). La détermination du BPA urinaire total (conjugué + libre) a été réalisée par une méthode DLLME/GC-MS validée. Un traitement statistique a été appliqué aux données, afin de déterminer les associations entre les taux urinaires du BPA total et les taux hormonaux. De même qu'a été approché le risque de survenue de perturbations biologiques chez les travailleurs exposés.

L'étude expérimentale a porté sur quatre groupes de souris adultes mâles, auxquels ont été administrées, respectivement, quatre doses : 25, 50, 500 et 1000 µg/kg/j de BPA. Après administration quotidienne, pendant 30 jours, les souris ont été accouplées à des femelles adultes, non traitées au BPA. La dissection des souris a permis de déterminer le poids et l'histologie des organes reproducteurs mâles ainsi que les points d'implantation chez les souris femelles.

Résultats : Les résultats de l'étude épidémiologique ont montré, chez les travailleurs, un niveau d'exposition au BPA, suffisamment élevé pour se préoccuper du risque qu'engendrerait le BPA sur la santé (taux urinaires moyens de $3,24 \pm 4,66$ µg/L). Il existe une corrélation significative entre les taux de BPA et l'âge des travailleurs ($p=0,02$). Des différences significatives, entre les travailleurs exposés et la population témoin, ont été notées pour les taux de l'hormone folliculostimulante (FSH), de glycémie, de triglycérides et de plaquettes sanguines. Le risque d'apparition de troubles de la fertilité ainsi que de troubles hormonaux, est notable. Il est rapporté un lien entre les taux urinaires de BPA et les années de travail ainsi que la nature des postes occupés dans l'industrie du plastique.

Les résultats expérimentaux ont mis en évidence, chez les souris exposées, une diminution du poids corporel, du poids des testicules et de l'épididyme ainsi qu'une augmentation du poids de la prostate ventrale et des vésicules séminales. Les observations étaient très explicites dans les lots exposés à 500 et 1000 µg/kg/j. L'histologie des testicules et des vésicules séminales est revenue altérée avec une dystrophie des tubes séminifères et une hyperplasie de l'épithélium glandulaire des vésicules séminales.

Conclusion : L'exposition professionnelle et environnementale au BPA est associée à un réel risque sanitaire. Les résultats de l'étude incitent à promouvoir des mesures préventives et à adapter, à la réalité du terrain, la législation traitant de l'exposition humaine, notamment, celle émanant de la multitude de produits susceptibles de renfermer du BPA.

Mots clés : Perturbateur endocrinien, bisphénol A, exposition humaine, fertilité masculine, santé au travail.

Summary

Objective: Endocrine disturbance of the reproductive type are increasing alarmingly worldwide. The Algerian fertility and contraception society indicates that infertility in Algeria is increasing sharply, from 15% to 20%. Today, the scientific conclusions that exposure to endocrine disruptors molecules and more particularly BPA, all converge on the involvement, in a safe way, of these molecules in the development of infertility problems.

This study focused on two studies, an epidemiological study and an experimental study. The objective of the epidemiological study was to assess the level of exposure to BPA among workers in the plastics industry, as well as to seek an association between BPA levels and the impact on the subjects' reproductive health. . The objective of the experimental study was to assess the effects of exposure to BPA on reproductive performance in male Swiss mice.

Methods: The epidemiological study was mainly carried out with; 170 employees in a plastic industry, located in the Constantine region. A questionnaire was sent to each of the subjects in order to collect various socio-demographic and professional information. A blood and urine sample was taken to determine the biological parameters (blood) and BPA levels (urine). The determination of total urinary BPA (conjugate + free) was carried out by a validated DLLME / GC-MS method. Statistical processing was applied to the data to determine the associations between total BPA urine levels and hormone levels. As has been approached the risk of occurrence of biological disturbances in exposed workers.

The experimental study involved four groups of adult male mice, which were administered four doses, 25, 50, 500 and 1000 $\mu\text{g} / \text{kg} / \text{day}$ of BPA, respectively. After daily administration, for 30 days, the mice were mated to adult females, not treated with BPA. Dissection of the mice determined the weight and histology of the male reproductive organs and the locations of implantation in female mice.

Results: The results of the epidemiological study showed a level of exposure to BPA among workers, high enough to address the health risk posed by BPA (average of 3, 24 ± 4 , $66 \mu\text{g/L}$). There is a significant correlation between BPA levels and the age of workers ($p=0, 02$). Significant differences were observed between exposed workers and the control population for Follicle Stimulating Hormone (FSH), glycemia, triglyceride and platelet levels. The risk of developing fertility disorders as well as hormonal disorders is notable. A link has been reported between urinary BPA levels and years of work and the nature of the positions held in the plastics industry.

The experimental results showed, in the exposed mice, a decrease in body weight, the weight of the testes and the epididymis as well as an increase in the weight of the ventral prostate and the seminal vesicles. The observations were very explicit in the lots exposed to 500 and 1000 $\mu\text{g} / \text{kg} / \text{day}$. The histology of the testes and seminal vesicles returned impaired with dystrophy of the seminiferous tubes and hyperplasia of the glandular epithelium of the seminal vesicles.

Conclusion: Professional and environmental exposure to BPA is associated with a real health risk. The results of the study encourage the promotion of preventive measures and the adaptation of legislation dealing with human exposure, in particular that emanating from the multitude of products likely to contain BPA, to the reality on the ground.

Key words: Endocrine disruptor, bisphenol A, human exposure, male fertility, occupational health.

ملخص

الهدف: تتزايد اضطرابات الغدد الصماء في الإنجاب بشكل مثير للقلق في جميع أنحاء العالم. تشير الجمعية الجزائرية للخصوبة و منع الحمل إلى أن العقم في الجزائر يتزايد بشكل حاد من 15% إلى 20%. واليوم ، تتلاقى الاستنتاجات العلمية التي تشير إلى أن التعرض لمخلالات الغدد الصماء ، وخاصة BPA ، على مشاركة هذه الجزيئات ، بطريقة مؤكدة ، في تطور مشاكل العقم.

ركز العمل على دراستين ، دراسة وبائية ودراسة تجريبية. كان الهدف من الدراسة الوبائية هو تقييم مستوى التعرض لـ BPA بين العاملين في صناعة البلاستيك ، وكذلك البحث عن ارتباط بين مستويات BPA والتأثير على الصحة الإنجابية للمشاركين. . كان الهدف من الدراسة التجريبية هو تقييم آثار التعرض لـ BPA على الأداء التناسلي لدى الفئران الذكور *Swiss*.

المنهج: أجريت الدراسة الوبائية مع 170 موظفًا في صناعة البلاستيك ، في قسنطينة. تم إرسال استبيان إلى كل الموظفين من أجل جمع مختلف المعلومات الاجتماعية والديموغرافية والمهنية. تم أخذ عينة من الدم والبول لتحديد المعايير البيولوجية (الدم) ومستويات BPA (البول). تم تحديد BPA البولي باستخدام طريقة GC-MS / DLLME المعتمدة. تم تطبيق المعالجة الإحصائية على البيانات لتحديد الارتباطات بين إجمالي مستويات BPA و المستويات الهرمونية. كما تم دراسة خطر حدوث اضطرابات بيولوجية عند العمال المعرضين.

اشتملت الدراسة التجريبية على أربع مجموعات من فئران الذكور البالغة ، والتي تم إعطاؤها أربع جرعات ، على التوالي ، 25 و 50 و 500 و 1000 مغ/كغ / يوم من BPA. بعد تناوله يوميًا ، لمدة 30 يومًا ، تم تزاوج الفئران بالإناث البالغة ، ولم يتم علاجها بـ BPA . أجري بعد ذلك تشريح الفئران ووزن الأعضاء التناسلية الذكرية وأنسجتها ومواقع زرعها في الفئران الأنثوية.

النتائج: أظهرت نتائج الدراسة الوبائية أن العمال تعرضوا لمستوى عالٍ من مادة BPA بما يكفي للقلق بشأن المخاطر الصحية التي يشكلها BPA (4.66 ± 3.24 ميكروغرام / لتر). هناك ارتباط كبير بين مستويات BPA وعمر العمال ، ولوحظت فروق ذات دلالة إحصائية بين العمال المعرضين و الغير معرضين لمستويات سكر الدم ، الدهون والصفائح الدموية. خطر الإصابة باضطرابات الخصوبة وكذلك الاضطرابات الهرمونية ملحوظ. تم أيضا ملاحظة وجود صلة بين مستويات BPA البولية وسنوات العمل وكذلك طبيعة المناصب التي يشغلها العمال في صناعة البلاستيك.

أظهرت النتائج التجريبية ، في الفئران المعرضة ، انخفاضًا في وزن الجسم ووزن الخصيتين والبربخ بالإضافة إلى زيادة في وزن البروستات البطنية والحويصلات المنوية. كانت الملاحظات واضحة للغاية في القطع المعرضة لـ 500 و 1000 مغ/كغ / يوم. أظهرت دراسة الأنسجة من الخصيتين والحويصلات المنوية ضهور الأنابيب المنوية والتضخم في الظهارة الغدية للحويصلات المنوية .

الخلاصة: التعرض المهني والبيئي لـ BPA مرتبط بمخاطر صحية حقيقية. تشجع نتائج الدراسة على تعزيز التدابير الوقائية وتكثيف التشريعات التي تتعامل مع تعرض الإنسان ، لا سيما تلك المنبثقة عن العديد من المنتجات التي يحتمل أن تحتوي على مادة BPA ، على أرض الواقع.

الكلمات المفتاحية: اختلال الغدد الصماء ، BPA ، تعرض الإنسان ، خصوبة الذكور ، الصحة المهنية.

INTRODUCTION

Introduction

Depuis deux décennies, l'intérêt des scientifiques va croissant, à l'égard des effets toxiques, vis-à-vis du bon fonctionnement du système endocrinien, effets qui pourraient résulter d'une exposition de l'Homme à des substances chimiques.

D'après John Mc Lachlan, la problématique de ce que l'on connaît, aujourd'hui, sous les termes de «perturbateurs endocriniens» (PE), a été décrite, en 1958, par Roy Hertz qui estimait «que le fait d'utiliser des hormones dans l'alimentation animale exposerait le consommateur à ces hormones, que des cycles de stéroïdes hormonaux sont créés dans notre processus de développement et qu'il est impératif de surveiller et étudier l'impact que pouvaient avoir ces molécules sur l'Homme exposé et, notamment, sur ses fonctions de reproduction» [1].

L'épisode du diéthylstilbestrol (DES) vient illustrer l'action de telles substances chimiques sur la reproduction. Le DES a été, largement, utilisé dans les années 50 et 60, en médecine, dans les thérapies de substitution œstrogénique. Ce n'est qu'en 1970 que le monde scientifique établit un lien entre le DES et toute une panoplie d'anomalies génitales observées chez les femmes exposées, durant leur vie fœtale. Les enfants de sexe masculin, exposés *in utero*, ont, également, révélé des malformations de l'appareil reproducteur, telles que l'hypospadias et la cryptorchidie [2]. Des études *in vivo*, faites sur des souris, ont révélé des anomalies de type cryptorchidie, testicules atrophiés, fertilité réduite, qualité de sperme altérée, tumeurs génitales [3].

L'utilisation du DES, pour ses propriétés œstrogéniques, a, ainsi, induit un problème majeur de santé publique qui reste d'actualité, car même des années plus tard, et malgré l'interdiction de l'usage de cette molécule, des effets délétères différés, mais similaires à ceux précédemment décrits, sont toujours observés.

Il faut attendre 1980 pour voir émerger l'hypothèse d'une perturbation endocrinienne, d'origine environnementale. Les molécules, à l'origine de ces perturbations, sont, alors, appelées «œstrogènes environnementaux». Depuis, l'intérêt que porte le monde scientifique à ce sujet, ne cesse de croître attendu que la problématique liée à la perturbation endocrinienne pourrait être le sujet de santé publique le plus préoccupant devant, même, la cancérogenèse et la mutagenèse.

Les perturbateurs endocriniens sont des substances chimiques ou des mélanges, d'origine naturelle ou artificielle, susceptibles de modifier le fonctionnement du système endocrinien ; ils sont suspectés de provoquer des effets, sur la santé humaine, comme les atteintes du système reproducteur, les anomalies du développement, les cancers hormono-dépendants, les pathologies thyroïdiennes, les troubles métaboliques... La question des effets sur la santé humaine de substances ayant des propriétés de perturbation endocrinienne, émerge depuis quelques années. Plusieurs rapports d'instances internationales, produits ces dernières années, ont attiré l'attention sur cette question [4-6].

Parmi les nombreuses molécules, figurant sur la liste des perturbateurs endocriniens, on retrouve le bisphénol A (BPA) ou le 2,2 - bis (4 -hydroxyphényl) propane.

Introduction

C'est un composé chimique synthétisé par condensation du phénol avec de l'acétone en présence d'un catalyseur. Il a été synthétisé, pour la première fois, en 1891, et son potentiel œstrogénique a été découvert en 1936, mais il ne fut pas utilisé en tant que tel [7].

Du fait de ses propriétés œstrogéniques, le BPA est, fortement, incriminé dans l'apparition de troubles endocriniens, et de ce fait, de troubles reproductifs. Le lien entre l'exposition au BPA et certaines pathologies de la reproduction, telles que les malformations des organes génitaux, chez les jeunes garçons, les cancers hormono-dépendants et les problèmes d'infertilité, sont rapportés dans de nombreuses revues de littérature scientifique.

Cette problématique est, surtout, associée dans l'opinion publique à des risques sur la santé de la population générale et sur l'environnement. Cependant, les risques professionnels sont autrement plus préoccupants. Les travailleurs sont susceptibles d'être exposés, parfois même de façon importante, à un grand nombre de substances, potentiellement, perturbatrices endocriniennes.

À travers le monde, la plupart des études réalisées sur le BPA sont menées sur la population générale, car on le localise, de façon ubiquitaire et étendue, dans des produits de consommation courante (produits d'entretien, emballages, cosmétiques, plastiques, jouets...). En milieu de travail, il y a, relativement, peu d'études spécifiques sur les conséquences d'une exposition au BPA [8], alors que celle-ci peut être accrue, multiple et survenir, plus tardivement, dans la vie des travailleurs.

En Algérie, l'analyse du Plan National d'Action pour l'Environnement et le Développement Durable (PNAE-DD de 2002-2011), avait démontré que l'étendue et la gravité des problèmes sanitaires, dus aux contaminants environnementaux, affectaient la qualité de vie de la population, la productivité et la durabilité du capital naturel. Il en ressort que l'Algérie n'échappe pas aux problèmes des perturbateurs endocriniens ; du reste, d'ailleurs notre pays s'est inscrit dans les stratégies internationales qui font face aux risques des polluants environnementaux sur la santé, à l'exemple du mémorandum d'accord, de 2018, entre l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et le Programme des Nations Unies pour l'Environnement (PNUE) de 2018 [9].

À l'instar de plusieurs pays en développement, l'Algérie est en phase de transition épidémiologique. Les affections chroniques telles que le diabète, les cardiopathies et le cancer constituent de réels problèmes de santé publique. Classiquement, ces affections sont attribuées au comportement alimentaire, à la sédentarité et aux facteurs génétiques, mais cette approche semble être, aujourd'hui, insuffisante pour expliquer l'ensemble de la problématique ; toutes les données scientifiques récentes imposent la nécessité de considérer la pollution chimique environnementale comme acteur important dans le développement de ces affections.

Dans notre pays, le constat est là ; peu d'études et de lois régissent la problématique de l'exposition quotidienne aux toxiques perturbateurs endocriniens ; ces substances sont, largement, utilisées en Algérie, résultant, essentiellement, des activités humaines et sont présentes dans l'environnement. L'évaluation de l'exposition et de l'émission de ces substances n'a été, à ce jour, évaluée que par des inventaires nationaux dans le cadre du Plan National de

Introduction

Mise en œuvre de la convention de Stockholm (PNM), sous l'égide du ministère chargé de l'environnement [9].

En Algérie, et à ce jour, il n'a pas été rapporté d'études évaluant les niveaux biologiques de BPA, en exposition générale comme en exposition professionnelle. Pourtant les innombrables charges qui pèsent sur ce toxique, au niveau international, incitent à une prise de conscience et à la prise en charge de cette problématique.

Les dernières statistiques indiquent que l'infertilité en Algérie est en nette augmentation puisqu'elle passe de 15 % à 20 % selon la Société Algérienne de Fertilité et de Contraception (SAFEC). En effet, vingt (20) sur cent (100) couples n'arriveraient pas à concevoir d'enfants, naturellement, durant les deux premières années de vie commune. 65 % des cas sont d'origine masculine (plus des deux tiers) contre 40 %, en moyenne, au niveau international. Ainsi, les tendances de l'infertilité se sont inversées, en Algérie, touchant, aujourd'hui, plus d'hommes que de femmes [10]. Devant ce constat, il convient de porter l'attention sur l'impact de l'exposition au BPA sur la santé reproductive.

Ce travail de thèse se propose de faire le point sur la question du bisphénol A lié à l'exposition professionnelle. Après un rappel de la problématique du BPA d'un point de vue toxicologique et réglementaire, les sources d'exposition au BPA seront détaillées. Les effets potentiels sur la santé et plus spécialement, sur la fertilité masculine seront présentés, ainsi que les études épidémiologiques et expérimentales y afférant.

Sur le plan expérimental, le travail cible les objectifs suivants

Objectif principal :

- Connaître le niveau d'exposition au bisphénol A (teneurs urinaires), chez des travailleurs de l'industrie des matières plastiques et rapporter ce niveau d'exposition à celui d'un groupe de sujets, non professionnellement, exposés au BPA.

Objectifs secondaires :

- Rechercher un éventuel impact sur leur fertilité, à travers l'analyse de paramètres hormonaux et de caractéristiques de fertilité.
- Mener une étude expérimentale *in vivo*, sur souris mâles, avec pour objectif d'évaluer les effets de l'exposition au BPA, sur les performances de reproduction des mâles (fonction génitale, comportement lors de l'accouplement, conception et gestation chez la femelle).

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : PERTURBATEURS ENDOCRINIENS

I.1. Rappels généraux sur l'endocrinologie

L'endocrinologie est la spécialité médicale dédiée aux hormones à sécrétion interne. Les hormones sont sécrétées par différentes glandes et participent au bon fonctionnement de l'organisme, grâce à leur transport par la circulation sanguine.

L'endocrinologie permet de vérifier le bon fonctionnement de ces systèmes de régulation, la quantité de ces hormones et de traiter les éventuelles pathologies liées à un processus hormonal. L'endocrinologie touche à toutes les fonctions de l'organisme ; nutrition, reproduction, digestion, dermatologie ou la croissance ...

I.1.1. Système endocrinien

C'est un système de régulation du corps humain. Il regroupe l'ensemble des organes qui sécrètent des substances chimiques appelées hormones, nécessaires pour le contrôle de certaines fonctions de l'organisme, grâce à des glandes endocrines (**figure 1**). Il désigne donc, un réseau dense et complexe entre plusieurs tissus corporels [11,12]. On dénombre neuf différentes glandes endocrines chez l'être humain [13].

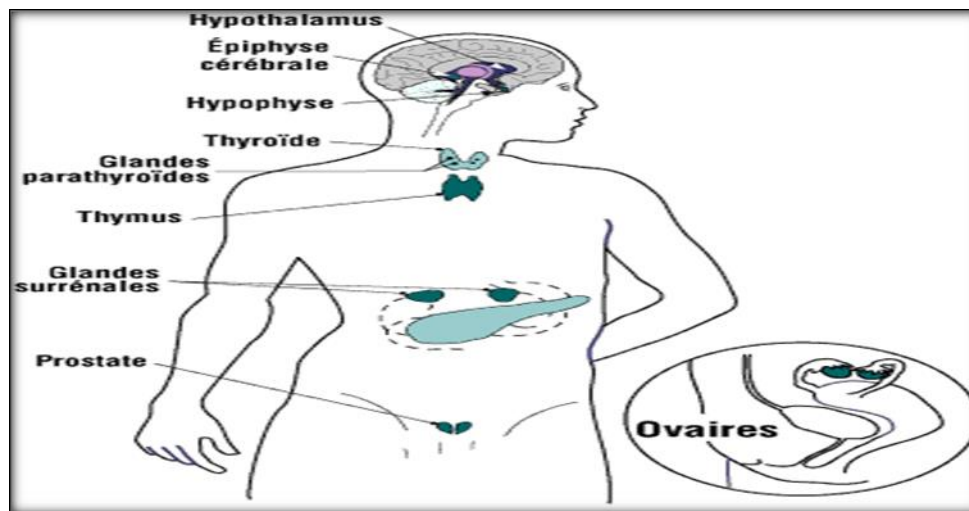


Figure 1 : Glandes endocrines chez l'être humain [13].

I.1.2. Hormones

Les hormones (appelées aussi messagers chimiques) sont des substances complexes, d'origine chimique, qui sont produites par les glandes endocrines. Elles pénètrent dans les capillaires et les vaisseaux lymphatiques de l'appareil circulatoire, et se déversent dans la circulation sanguine [13].

Il existe quatre catégories différentes d'hormones (**tableau 01**).

Tableau 01 : Différentes catégories d'hormones [13].

Hormones dérivées d'amine	Un seul acide aminé (tyrosine ou tryptophane) dérivé	Hydrophile Fixation sur des récepteurs de surface
Hormones peptidiques	Chaîne d'acides aminés	
Hormones stéroïdes	Dérivé du cholestérol	Lipophile Fixation sur des récepteurs intracellulaire ou nucléaire
Hormones lipidiques	Dérive de lipides ou phospholipides	

I.1.2.1. Rôle des hormones

Les hormones ont un rôle majeur dans la régulation des fonctions de l'organisme humain, elles coordonnent et contrôlent de nombreuses activités essentielles telles que ; la croissance, la différenciation cellulaire, le développement sexuel, la reproduction, le métabolisme, le comportement, l'homéostasie... Les hormones sont efficaces à faible dose, elles peuvent ou accélérer ou ralentir l'activité de la cellule hôte par rapport à l'activité normale [14].

Le **tableau 02** présente les différentes fonctions qui nécessitent l'intervention des hormones et les réponses apportées par ses dernières.

Tableau 02 : Fonctions nécessitant l'action d'hormones.

<i>Fonctions</i>	<i>Hormones</i>	<i>Réponses</i>
Reproduction	Androgènes, œstrogènes, progestérone, hormones hypophysaires (LH, FSH, prolactine)	Production de gamètes, facteurs de croissance, gestation ; instauration du comportement sexuel
Croissance et développement	Hormones thyroïdiennes, insuline, androgènes, œstrogènes, progestérone	Large action sur la croissance
Maintien de l'environnement interne	Vasopressine, aldostérone, hormone parathyroïdienne	Contrôle du volume et de la pression artérielle. Contrôle de la balance des électrolytes. Contrôle des os, des muscles, de la graisse
Disponibilité énergétique	Insuline, glucagon, hormones thyroïdiennes	Régulation du métabolisme

I.1.2.2 Mode d'action des hormones

Bien que l'ensemble des tissus et organes d'un organisme puisse être exposé aux hormones via la circulation sanguine, seuls certains répondront de manière spécifique à une hormone donnée.

Les hormones peuvent être classées en deux grands groupes pour ce qui concerne leur site d'action initiale ; les hormones hydrophobes qui traversent les bicouches lipidiques des membranes plasmiques et les hormones hydrophiles qui ne le peuvent pas. Ces dernières agissent en se liant à des récepteurs membranaires.

Il existe plusieurs types de récepteurs transmembranaires qui se différencient, notamment, par les mécanismes de transmission du signal hormonal, mais qui conduisent tous au même résultat, qui est l'activation d'une ou plusieurs protéine-kinases intracellulaires.

Après la formation du complexe hormone-récepteur transmembranaire, ces récepteurs interagissent avec divers composants membranaires, conduisant à la biosynthèse d'un ou de plusieurs seconds messagers intracellulaires (AMPc, IP3, DAG...) qui activent les protéine-kinases intracellulaires.

Les hormones hydrophobes comme l'acide rétinoïque, les stéroïdes ou les hormones thyroïdiennes traversent directement les membranes plasmiques cellulaires et agissent en se liant à des récepteurs spécifiques : les **récepteurs nucléaires**.

I.1.3. Récepteurs nucléaires

C'est un large groupe de protéines, agissant comme récepteurs à des ligands endogènes et/ou exogènes. Les récepteurs nucléaires sont impliqués dans la régulation d'un très grand nombre de fonctions physiologiques (**figure 2**), on cite ; la croissance, la multiplication, la différenciation cellulaire et l'homéostasie [15].

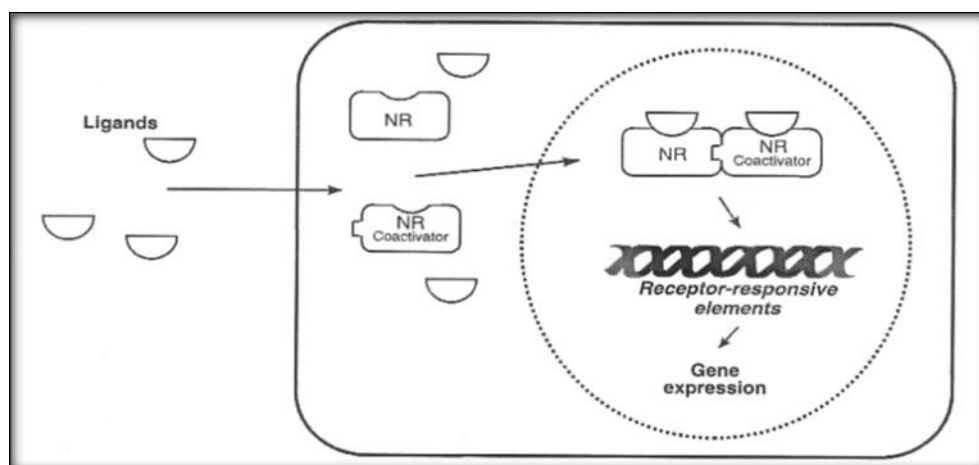


Figure 2 : Mécanisme général de traduction du signal par les récepteurs nucléaires [16]

I.1.3.1. Mode d'action et classification des récepteurs nucléaires

Ces récepteurs ont un mode d'action commun ; après la liaison à un ligand spécifique, leur conformation structurale change et le récepteur, souvent après une dimérisation avec un modulateur, migre dans le noyau cellulaire, se lie à l'ADN, et déclenche l'expression du gène qui en dépend [15].

Quarante-huit récepteurs nucléaires ont été identifiés et ont été classés en fonction de leurs ligands respectifs :

- Les récepteurs de type I pour les hormones stéroïdes ; récepteur à la progestérone (PR), récepteur aux estrogènes (ER), aux androgènes (AR), aux glucocorticoïdes (GR), et aux minéralocorticoïdes (MR).
- Les récepteurs de types II ; récepteurs thyroïdiens (TR), à la vitamine D (VDR), récepteurs aux rétinoïdes totaux (RXP) et récepteurs à l'acide rétinoïque (RAR), récepteurs au proliférateur de peroxyosome activé (PPAR) et récepteur à l'arylhydrocarbène (AhR).
- Les récepteurs de type III ; les récepteurs orphelins qui n'ont pour l'instant pas de ligands spécifiques connus, dont : les «pregnan X receptor» (PXR) et le «constitutive androstanereceptor» (CAR) [14].

Seuls les récepteurs nucléaires liés aux hormones stéroïdiennes seront traités ici.

A. Récepteurs aux estrogènes (ER)

Le 17- β -estradiol, l'estrone et l'œstriol sont les ligands endogènes majeurs de l'ER. Ils sont produits au niveau des ovaires, mais également par le placenta, le cortex des glandes surrénales (**figure 3**) [17–19].

	1	148	214	304	500	530
hER β	A/B	C	D	E	F	
	1	185	251	312	549	595
hER α	15,5		30,0	54,0	F	

Figure 3 : Sous-types (2) de récepteurs aux estrogènes identifiés chez l'Homme [16].

La liaison des ER à un élément de réponses aux estrogènes (ERE) de l'ADN, est responsable de la différenciation médiée par l'œstradiol [20,21].

B. Récepteurs aux androgènes (AR)

La structure de cette protéine est très proche de celle du récepteur à la progestérone et des récepteurs aux minéralocorticoïdes [22].

L'AR est principalement exprimé dans les testicules, mais il est également présent dans la prostate, les glandes surrénales, les reins, le cerveau et l'hypophyse. Ses ligands endogènes sont la testostérone et son métabolite, la 5 α -dihydroxytestostérone (5 α -DHT), ainsi que l'andostènedione et la dihydroépiandrostérone (DHEA). Le rôle du récepteur aux androgènes chez les organismes mâles est semblable à celui des récepteurs aux œstrogènes chez les femelles [23].

Les androgènes jouent un rôle essentiel dans le développement des caractéristiques sexuelles primaires et secondaires masculines. Ils régulent également la masse musculaire et la croissance osseuse.

I.2. Perturbateurs endocriniens (PE)

Certaines substances, présentes dans la nature ou produites par l'Homme, peuvent agir sur le système endocrinien. Par exemple, des substances chimiques d'origine végétale ont des effets qui rappellent ceux de certaines hormones. Certains médicaments ou polluants du milieu environnemental peuvent imiter ou au contraire bloquer l'activité des hormones [13].

I.2.1. Définition

Le terme de PE est apparu dans les années 90. Aujourd'hui encore, il n'existe aucune définition mondiale. En revanche, une première définition a été proposée en 1996 par l'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Economiques) ; « Substance étrangère à l'organisme qui produit des effets délétères sur un organisme vivant ou sa descendance à la suite de changements d'une modification hormonale » et améliorée, ensuite, au fil des années par différents organismes [20].

La perturbation endocrinienne n'est pas considérée comme un effet adverse en soit, mais comme un mode d'action pouvant mener à des changements fonctionnels et à des effets délétères. Ainsi, les PE, pris dans leur ensemble, n'ont pas d'autre point commun que la propriété qui les définit.

I.2.2. Classification

Plus de 500 substances perturbatrices endocriniennes ont été identifiées. Aucune classification n'est, à ce jour, admise par tous, mais en fonction de leurs origines et de leurs modes d'action, on peut définir trois classes de perturbateurs endocriniens ; naturelle, synthétique et anthropique [12,24].

Les hormones naturelles sont présentes dans les organismes vivants (œstrogènes, progestérone, testostérone), mais aussi, dans l'alimentation humaine et animale sous forme de phytoœstrogènes. Certains perturbateurs endocriniens sont des substances chimiques synthétiques utilisées dans l'industrie (phtalates, alkyl phénols...), ou dans le secteur agricole (pesticides, hormones synthétiques) et leurs sous-produits comme la dioxine.

Parmi les molécules incriminées, certaines sont des toxiques environnementaux tels que les hydrocarbures halogénés poly aromatiques, les pesticides organochlorés, les métaux lourds, le bisphénol A, les phytoœstrogènes et les éthers de glycol [25–28].

I.2.2.1. Substances naturelles

Ce sont des hormones synthétisées par le corps. Elles comprennent la progestérone, l'œstrogène, la testostérone, l'insuline... Cependant ce type d'hormones n'est pas uniquement présent chez l'Homme. En Effet on en retrouve dans les gonades des animaux et dans les végétaux sous forme de phytoœstrogène, comme dans le soja [21,29,30].

I.2.2.2. Substances de synthèse

Les substances de synthèse sont la plupart du temps des hormones identiques aux hormones naturelles. Elles comprennent :

- Les hormones utilisées dans les contraceptifs (progestérone et œstrogène) oraux ;
- Les hormones de traitement de la ménopause ;
- Les hormones pour pallier au déficit hormonal de certaines maladies comme le diabète [13].

I.2.2.3. Substances anthropiques

Ce sont des substances chimiques utilisées, souvent, par les industries cosmétiques, pour leurs propriétés physico-chimiques. Il s'agit notamment ; des phtalates, des filtres solaires, des parabènes et d'autres composés... (**Tableau 03**).

Tableau 03 : Perturbateurs endocriniens potentiels utilisés dans les produits cosmétiques [31,32]

<i>Substance</i>	<i>Utilisation</i>
Alkyphenol	Nettoyant dans la mousse à raser
4,4 - dihydrobenzophénone	Produits solaires en tant que filtre UV
4 -méthylbenzylidène camphor	
Éthylhexyleméthoxyciannamate	
3 - Benzylidene camphor	
Propylparabène	Conservateur
Butylparabène	
Tert-butylhydroxyanisole (BHA)	Antioxydant et conservateur
1,3 - Dihydroxybenzene	Présent dans les teintures comme fixateur
Diéthylephtalate (DEP)	Fixateur de parfum, solvant, durcissement des vernis
Dihexylephtalate (DHP)	
Triclosan	Conservateur

I.2.3. Sources des perturbateurs endocriniens (Tableau 04)**Tableau 04:** Principales sources des perturbateurs endocriniens [9].

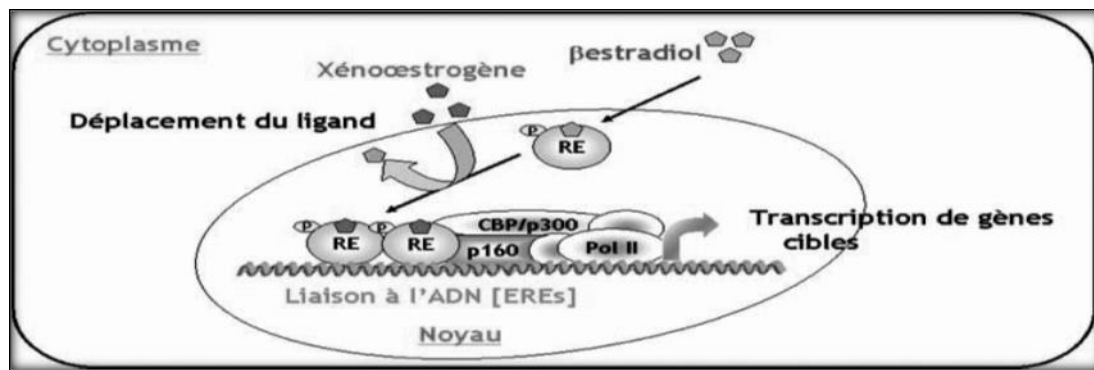
<i>Famille chimique</i>	<i>Sources potentielles</i>	<i>Exemples</i>
Phtalates	Plastiques, cosmétiques	Dibutylphtalate
Alkyl phénols	Détergents, plastiques, pesticides	Nonylphenol
Hydrocarbures aromatiques polycycliques	Sources de combustion : fumée de cigarette, émission des moteurs diesels, incendies	Benzo (a) pyrène
Polychlorobiphényles	Transformateurs électriques	PCB
Anciens pesticides	Résiduels de stockage, pollution rémanente	DDT, dieldrine, chlordane
Autres pesticides	Agriculture, nettoyages urbains, jardins particuliers	Atrazine, éthylène thio-urée, lindane, malathion
Retardateurs de flamme	Mousse pour les mobiliers, tapis, équipement électronique	Polybromodiphényle (PBDE)
Dérivés phénoliques	Désinfectants, plastiques, cosmétiques	Bisphénol A, parabènes, halogéno-phénols

I.2.4. Mécanisme d'action des perturbateurs endocriniens (PE)

Les mécanismes selon lesquels les PE peuvent interférer avec la régulation hormonale sont nombreux. Un seul PE peut agir selon plusieurs mécanismes à la fois.

I.2.4.1. Mécanisme d'action génomique des PE

Les perturbateurs endocriniens ont été appelés dans les premières études « xénoœstrogènes », car ils jouaient le même rôle que les œstrogènes en se liant au récepteur nucléaire de ces hormones (**figure 4**). Par exemple, le diétylstilbesterol et les autres œstrogènes ont montré une liaison à ER- α et ER- β [21].



RE = récepteur des œstrogènes/ERE = éléments de réponse aux œstrogènes/Pol II = ARN polymérase II

Figure 4 : Activation du récepteur des œstrogènes [33].

Le récepteur des œstrogènes, activé par la liaison de son ligand, le bêta œstradiol, va conduire à l'expression des gènes cibles en se liant à des éléments de réponse aux œstrogènes, qui sont présents au niveau du promoteur de ces gènes cibles, et en y recrutant la machinerie de transcription [34–36].

Les récepteurs aux androgènes AR peuvent être activés par certaines hormones via la voie des MAP kinases (Mitogen Activated Protein), et se lier à des éléments de réponse aux androgènes (ARE). Or les perturbateurs endocriniens pourraient interagir sur les récepteurs membranaires de la dopamine et d'autres hormones, et réguler la voie des MAP kinases [37,38].

A. Mode d'action sur les récepteurs stéroïdiens

Les perturbateurs endocriniens peuvent inhiber ou activer les récepteurs nucléaires. Leur action peut être œstrogénique ou anti-œstrogénique et/ou anti-androgénique.

- Action agoniste

Une molécule exogène agoniste est capable de se lier à un récepteur, comme le fait une hormone, et de l'activer entraînant les effets normalement provoqués par l'hormone endogène. La réponse dépend de son affinité pour le récepteur et de sa capacité à l'activer.

Les toxiques œstrogéniques sont représentés par certains pesticides comme le DBCP (1-2-dibromo-3-chloropropane), le bisphénol A et B, la chlordécone, le méthoxychlore, l'octylphénol, le nonylphénol, l'éthinylestradiol, les mycotoxines fongiques (zéaralénone) et les phytoœstrogènes (génistéine, soja) [39].

- Action antagoniste

Une molécule exogène antagoniste est capable d'empêcher ou de diminuer l'activation d'un récepteur en présence d'une molécule agoniste.

Cette inhibition peut être compétitive si l'agoniste endogène et l'antagoniste exogène sont en compétition pour le même site de liaison du récepteur, ou non compétitive si l'inhibiteur se lie au récepteur ou au complexe (récepteur + hormone) ailleurs que sur le site d'activation.

De nombreux PE ont une action anti-androgénique ; le DDT et son métabolite ; le DDE, la procymidone, le linuron et le permixon. D'autres perturbateurs endocriniens ont un effet anti-androgénique, mais le mécanisme d'action diffère selon le perturbateur endocrinien en cause [40–44].

I.2.4.2. Mécanisme d'action non génomique des PE

Les PE pourraient aussi agir, directement, sur les récepteurs membranaires. Cette action est en partie assurée par un récepteur membranaire qui fixe également la noradrénaline. Le bisphénol A, le diéthylstilbestrol et le DDT sont aussi capables de se fixer sur ce récepteur membranaire [45– 48].

Des études indiquent que ces récepteurs stéroïdiens de la membrane seraient apparentés aux récepteurs ER intracellulaires, mais les données décrivant les interactions directes entre les PE et les récepteurs membranaires sont peu nombreuses [49].

I.2.4.3. Interactions entre les récepteurs nucléaires stéroïdiens et le récepteur arylhydrocarbone

Les PCB, PCDF et les dioxines comme le TCDD interagissent avec le récepteur arylhydrocarbone [50–52].

Lors de l'accident de Seveso en 1976 (rejet dans l'atmosphère d'un nuage toxique contenant de la dioxine 2, 3, 7, 8 - TCDD par l'usine de Seveso), il a été noté une modification du *sex-ratio* en faveur des filles, ainsi que la progression de certains risques de maladies comme les cancers [53,54].

I.2.4.4. Action sur les hormones**A. Action sur la synthèse des hormones stéroïdiennes****A.1. Action sur l'aromatase**

Certains PE inhibent la synthèse des hormones stéroïdiennes, en particulier par inhibition de l'activité aromatasase. L'aromatase CYP450 convertit les androgènes (C19) en œstrogènes aromatiques (C18) chez le mâle. Cette enzyme fait partie d'une famille distincte à l'intérieur de la grande famille CYP450 [55].

L'aromatase a deux sites d'action ; le cerveau et les testicules. Dans les testicules des mammifères, l'aromatase est principalement localisée dans les cellules de Leydig [56].

A.2. Action sur d'autres enzymes

Plusieurs classes d'antifongiques ont été développées afin d'inhiber la synthèse de la membrane fongique et la croissance fongique. Ils agissent par inhibition spécifique de l'enzyme cytochrome P 450, en particulier, la 14 α -déméthylase [57].

Le kétoconazole (dérivé de l'imidazole) inhibe plusieurs mono-oxygénases du groupe des cytochromes CYP450 comme l'aromatase, la 17 α hydroxylase dans les testicules de rats et humains. Il a des effets sur la fertilité des rats mâles. La 5 α -réductase est l'enzyme responsable de la conversion de la testostérone en dihydrotestostérone (DHT), forme responsable de la masculinisation des organes génitaux externes mâles [58–60].

Le finastéride est un inhibiteur de la 5 α -réductase utilisé dans le traitement des cancers androgène-dépendant de la prostate et dans la chute capillaire chez les hommes. Des études sur le finastéride ont démontré la corrélation entre la différenciation de la prostate et des organes génitaux externes et le taux de DHT [54,61,62].

. Actions sur le métabolisme des hormones

Les œstrogènes et leur précurseur stéroïdien ; le DHEA (déhydroépiandrostérone) sont, normalement, transportés dans le sang sous la forme sulfoconjuguée et ne pénètrent pas, sous cette forme, dans la cellule cible.

Les sulfatases situées sur la surface des cellules cibles libèrent les stéroïdes (libres) qui peuvent, alors, pénétrer dans la cellule cible. Tout excès de stéroïde est conjugué et libéré par les cellules. Donc, les perturbateurs endocriniens, qui peuvent altérer le ratio sulfotransférase/sulfatase, inhibent, aussi, l'action des œstrogènes endogènes sur les tissus cibles [63]. De nombreux composés phénoliques, ex les alkylphénols, inhibent les sulfatases [63].

Les PCB (polychlorobiphényles) inhibent les sulfotransférases SULT 1E1 ; ce sont, aussi, de puissants inhibiteurs de la thyroxine en se liant à la protéine de transport de la thyroxine humaine, la transthyréline. Les PCB représentent, donc, un exemple de perturbateurs endocriniens qui agissent par deux mécanismes [64–66].

Les phytoœstrogènes peuvent modifier le métabolisme des hormones stéroïdes à plusieurs niveaux. Ils se lient à la globuline de transport plasmatique des stéroïdes (*Sex steroid binding protein*) et inhibent, de façon non compétitive, la liaison de l'œstradiol et de la testostérone [67-70].

I.2.5. Principaux perturbateurs endocriniens

Quelques exemples de perturbateurs endocriniens seront abordés et, notamment, ceux ayant des effets sur la fertilité masculine, ce volet sera développé ultérieurement.

I.2.5.1. Phytoœstrogènes

Les catégories de phytoœstrogènes sont les flavones (quercétine), les flavonones (naringénine), les isoflavones (génistéine, daidzéine, chalcones) (**figure 5**), les lignanes et les coumestanes. À ces acteurs essentiels, il convient d'ajouter les polyphénols tels que le resvératrol et les prénylflavonoïdes tel que le xanthohumol.

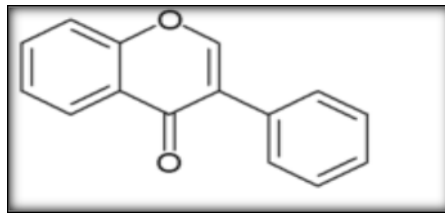


Figure 5 : Structure chimique de base des isoflavones [71].

Les phytoœstrogènes sont présents dans l'alimentation des animaux et des êtres humains. Le soja est une source importante de phytoœstrogènes [72-74].

I.2.5.2. Hormones naturelles et synthétiques

A. Hormones naturelles

Le cholestérol est le précurseur des différentes classes d'hormones stéroïdiennes, notamment les hormones sexuelles (**figure 6**). Les différentes familles se distinguent par leur nombre d'atomes de carbone ; les progestagènes (C21), les androgènes (C19) et les œstrogènes (C18) [50].

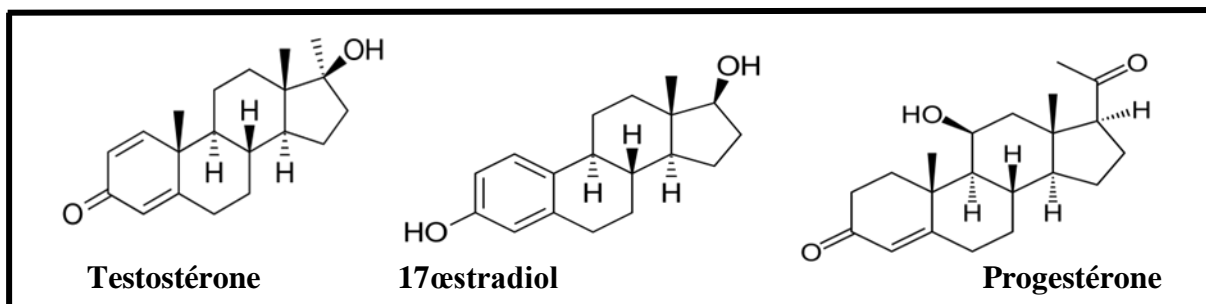


Figure 6 : Structures chimiques des stéroïdes sexuels naturels [71].

B. Hormones synthétiques

Les œstrogènes de synthèse les plus utilisés en médecine humaine sont l'éthinylestradiol et le mestranol, les progestatifs sont le norgestrel ou la noréthistérone. Le diéthylstilbestrol (DES) a été longtemps utilisé depuis les années 1930 pour limiter les risques d'avortement, mais il a

été interdit chez les femmes enceintes à partir des années 1970 à cause de ses effets sur la santé (malformations et cancers génitaux) (**figure 7**).

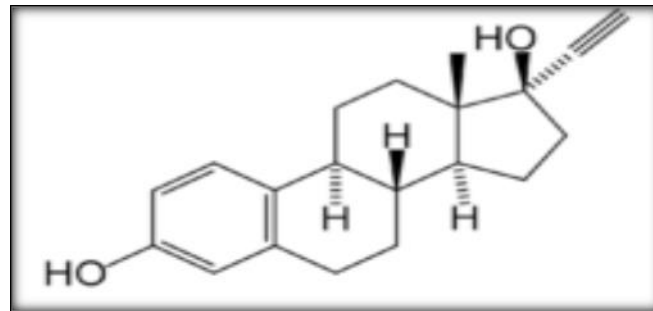


Figure 7 : Structure chimique l'éthinylestradiol [71].

Les stéroïdes de synthèse, produits par l'industrie pharmaceutique, sont des contraceptifs oraux (inhibant l'ovulation) ou des stéroïdes utilisés dans les traitements hormonaux substitutifs lors de la ménopause.

Dans l'environnement, les stéroïdes de synthèse proviennent principalement de l'agriculture et de l'élevage des animaux de rente. Les hormones de synthèse persistent plus durablement dans l'environnement que les hormones naturelles dont la dégradation est plus rapide [60].

I.2.5.3. Hydrocarbures aromatiques polycycliques halogénés (HAP)

A. PCB

Les polychlorobiphényles sont des mélanges de molécules formées de deux cycles aromatiques (biphényle) pouvant porter chacun un nombre variable d'atomes de chlore placés en diverses positions (**figure 8**). Le groupe des PCB comprend 209 congénères.

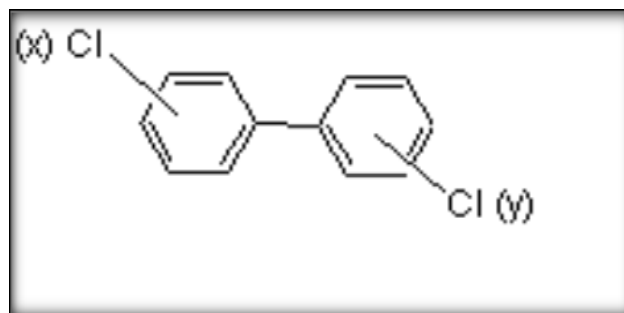


Figure 8 : Formule chimique des PCB [71].

Ce sont des composés particulièrement stables physiquement et chimiquement ; ce sont donc des contaminants redoutables. Leur dégradation est très difficile, ils se répandent par l'air, l'eau et la terre. Ils sont inodores, semi-volatiles, hydrophobes, et donc solubles dans les graisses[75].

B. Furanes et Dioxines

Les furanes (PCDF) et dioxines (PCDD) sont des molécules formées de deux cycles aromatiques associés à un cycle oxygéné soit de type 1,4 dioxane pour les PCDD, soit de type furane pour les PCDF (**figure 9**).

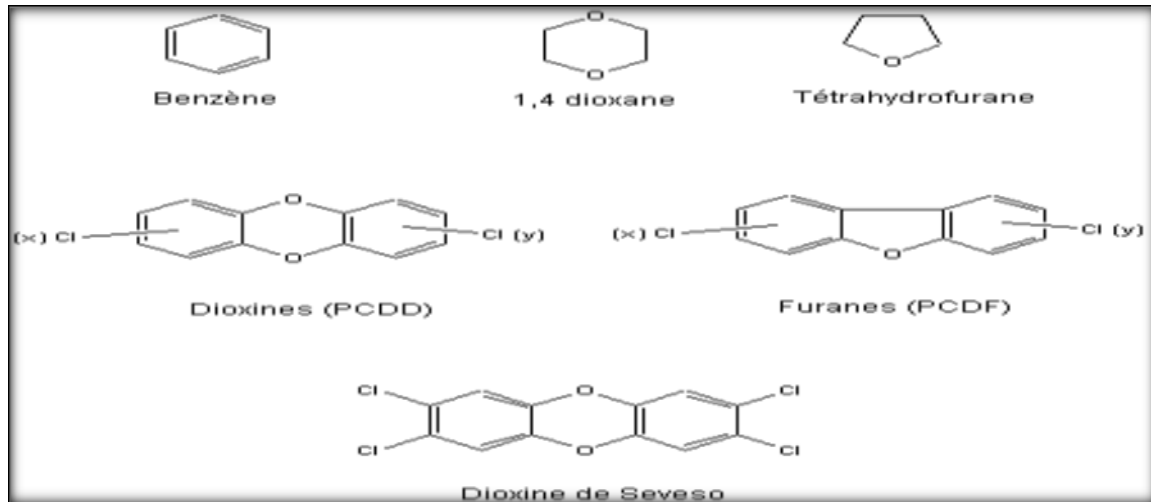


Figure 9 : Formules chimiques des PCDD et PCDF [71].

À la différence d'autres PE, les dioxines et furanes ne sont pas des molécules synthétisées dans un but précis. Ce sont des composés non désirés qui se forment sous certaines conditions liées aux activités de l'Homme, industrielles et/ou domestiques.

La pénétration dans l'organisme des dioxines s'effectue essentiellement par voie alimentaire. Le cerveau capte proportionnellement moins de dioxines que les autres organes malgré sa richesse en lipides [76].

I.2.5.4. Pesticides

A. Insecticides organochlorés

– **DDT** : le Dichloro Diphenyl Trichloroéthane ou 1,1, 1-trichloro-2, 2-bis (p-chlorophenyl) éthane a été très utilisé dans le monde depuis les années 1940 pour le contrôle des moustiques et la lutte contre la malaria ou le typhus. Après ingestion, le DDT est métabolisé en 1,1 - dichloro-2,2 - bis (4 -chlorophényl) éthylène ou DDE. Ces composés s'accumulent dans les graisses animales ou humaines. Le DDT est hautement persistant dans l'environnement [77].

– **HCB** : le Hexachlorobenzène est un pesticide utilisé jusqu'en 1965 comme fongicide. Le principal émetteur de HCB est le secteur de l'industrie manufacturière dont la métallurgie des métaux non ferreux. Puis viennent le traitement des déchets, les véhicules diesel et la combustion du bois et de charbon [78] (**figure 10 et 11**)

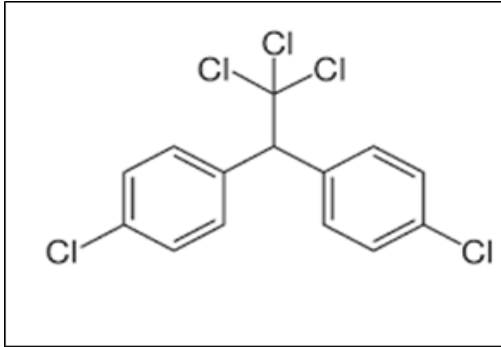


Figure 10 : Formule chimique du DDT [71].

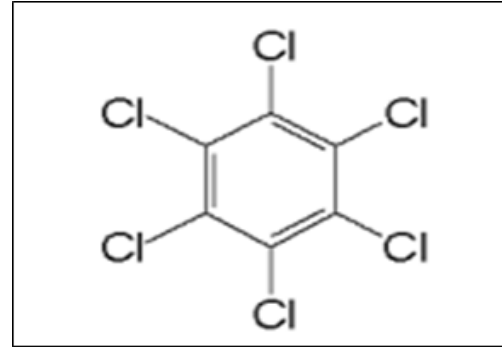


Figure 11 : Formule chimique du HCB [71].

B. Fongicides

– Vinclozoline

La dicarboximidevinclozoline (3-(3,5-dichlorophenyl)-5-méthyl-5-vinyl-oxazoline-2,4-dione) (**figure 12**) est un fongicide utilisé dans de nombreuses formulations commerciales pour traiter les fruits et les légumes comme les laitues les haricots ou les vignes [51].

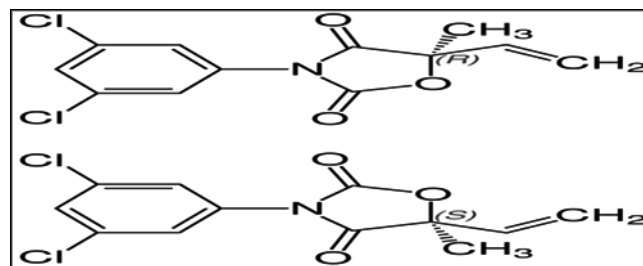


Figure 12 : Structure chimique du Dicarboximide-vinclozolin [51].

I.2.5.5. Produits industriels (Alkylphénols/Phtalates/BPA)

A. Les Alkylphénols

Ce sont des substances chimiques non halogénées. Il s'agit presque exclusivement des éthoxylates d'alkylphénol (APE), une famille de surfactants non anioniques. Les APE les plus utilisés sont les éthoxylates de nonylphénols (NPE) et d'octylphénol (OPE) (**figure 13**).

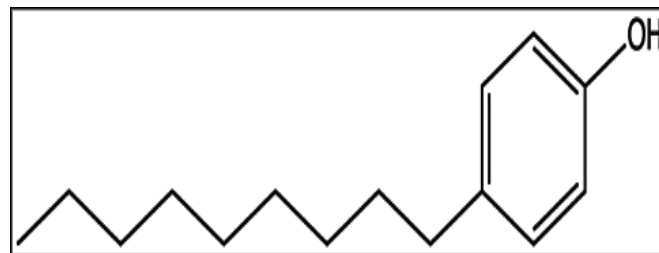


Figure 13 : Structure chimique du nonylphénol [71].

Le plus connu des alkylphénols est l'octylphénol qui a des effets néfastes sur la fertilité masculine [79,80].

B. Phtalates

Les phtalates sont utilisés depuis les années 1930. Ils participent à la polymérisation du chlorure de vinyle (PVC), auquel ils confèrent la flexibilité voulue et dont ils facilitent la mise en forme (**figure 14**).

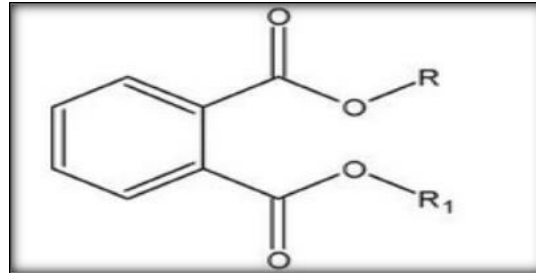


Figure 14 : Structure générale des phtalates [71].

Les phtalates les plus utilisés sont ; le DEHP (diethylhexylphtalate), le MEHP (monoethylhexylphtalates), le DMP (dimethylphtalate), le BBP (buthylbenzilphtalate), le DBP (dibuthylphtalate), le DOTP (dioctylterephthalate) et le DINP (diisononylphtalate).

Les phtalates sont très peu solubles dans l'eau et ont une forte affinité pour les graisses. Ce sont des molécules qui sont bien absorbées par voie orale et par voie pulmonaire, l'absorption cutanée est quasiment inexistante. Dans l'organisme, la distribution est rapide vers les poumons, la rate, les tissus adipeux et plus particulièrement vers le foie. Ils sont, alors, métabolisés en monoesters par hydrolyse enzymatique. Ces monoesters, ainsi que les autres métabolites, sont excrétés dans les urines sous forme glucuro-conjuguée. Il existe un passage de la barrière placentaire ; une accumulation de métabolites se produit pendant la vie fœtale [78].

C. Bisphénol A (BPA)

Le bisphénol A est un composé chimique issu de la réaction entre deux molécules de phénol et une molécule d'acétone. Il entre dans la fabrication et le revêtement des boîtes de conserves, de canettes et de biberons. Il s'accumule à 50 % dans les sédiments et se dégrade rapidement [5].

Nous détaillerons l'étude du BPA au deuxième chapitre de la revue bibliographique.

I.2.6. Voies d'exposition et effets généraux des PE

Les perturbateurs endocriniens sont des substances naturelles, synthétiques ou chimiques et les voies d'exposition sont nombreuses, car on les retrouve dans de nombreux objets du quotidien ; plastiques, pesticides, aliments, cosmétiques, meubles, électroniques... L'Homme peut donc être exposé à ces PE par différentes voies [13,81] :

- Voie digestive : aliments et boissons, mais aussi les substances libérées par les contenants alimentaires.
- Voie respiratoire : poussière ou vapeur pouvant contenir des PE.
- Voie cutanée : cosmétique, eau.

En général, les PE peuvent être à l'origine de pathologies graves à effets immédiats ou à effets retardés (générations suivantes). Les principales conséquences sanitaires potentielles, concernent ; la reproduction, le métabolisme, le système nerveux, le système immunitaire, le système cardiovasculaire et la fonction thyroïdienne.

I.2.7. Notions sur la relation période d'exposition, dose, effets des PE

I.2.7.1. Période d'exposition

Contrairement aux produits chimiques où on juge de l'effet toxique d'un produit ou d'une substance par rapport à la dose ingérée, les PE sont, quant à eux, jugés par la période d'exposition de l'organisme. En effet, au cours de la vie et du développement de l'Homme, il est clair que certaines périodes seront beaucoup plus dangereuses que d'autres ; la dangerosité étant liée à la vulnérabilité de l'organisme. Ces périodes sont représentées dans le **tableau 05** [81–83].

Tableau 05: Périodes de dangers d'expositions aux PE.

<i>Période</i>	<i>Raisons</i>
Vie prénatale	<p>1) Le fœtus n'est pas capable de mettre en place un système de régulation hormonale.</p> <p>2) La détermination du sexe et le développement des organes du fœtus se font grâce à de nombreuses hormones naturelles. Ces hormones pourraient alors être remplacées par des PE.</p>
Petite enfance	La période de croissance de tout l'organisme de l'enfant est contrôlée par des hormones. Les PE pourraient alors modifier cette phase de croissance et induire différentes pathologies concernant la reproduction, le métabolisme et les pathologies cardiovasculaires.
Puberté	La puberté est contrôlée par les hormones sexuelles, mais si des PE, identiques aux hormones naturelles interviennent, l'enfant se retrouve également confronté à différentes pathologies telles qu'une puberté précoce ou une puberté retardée.

I.2.7.2. Latence entre exposition et effets

Il est important de noter que l'effet des PE n'est pas forcément immédiat. En effet, dans certains cas, les symptômes et/ou les pathologies ne se manifestent qu'à l'âge adulte et, dans d'autres cas, ce n'est qu'après une ou plusieurs générations. L'un des exemples qui illustrent, le mieux, ce phénomène est le cas du Distilbène[®].

On a observé chez les femmes, dont les mères avaient été traitées par le Distilbène[®] durant leur grossesse de nombreuses pathologies ; cancer du vagin, diverses malformations de l'appareil reproducteur, grossesses anormales et modifications de la réponse immunitaire [13].

I.2.7.3. Effets imputés

Généralement, l'exposition aux PE se fait à faibles doses. L'estimation est donc compliquée, mais avec les phénomènes de bioaccumulation on finit par retrouver des quantités importantes de PE dans l'organisme humain. Par ailleurs, les effets cumulatifs et les effets cocktails sont deux facteurs qui vont multiplier les risques de nocivité des PE [84].

A. Effet cumulatif

L'effet cumulatif est défini comme l'exposition d'une personne à une molécule dite perturbatrice à de multiples reprises. Ainsi, la probabilité qu'elle subisse la nocivité de ce PE est d'autant plus importante. La fréquence d'exposition va donc rendre la personne plus vulnérable aux effets engendrés par les PE.

On cite l'exemple du triclosan dans le cas des cosmétiques ; il est reconnu comme faisant partie des matières premières qui perturbent le système endocrinien. Il est utilisé dans de nombreux produits cosmétiques comme conservateur, mais aussi comme agent déodorant [85].

B. Effet cocktail

Différentes substances, reconnues comme PE et contenues dans un ou plusieurs produits, peuvent interagir. Plus leurs interactions (additives et synergiques) sont importantes, plus le risque d'effet néfaste sera élevé [85].

I.2.8. Détection et identification des PE

L'observation des données épidémiologiques et expérimentales a mis l'accent sur la nécessité de détecter la présence ou l'effet de produits responsables des perturbations de la reproduction.

Les méthodes de détection des effets incluent des tests réalisés *in vivo* et *in vitro*. Grâce à ces tests, plus de 500 perturbateurs endocriniens ont été détectés [75,86,87].

I.2.8.1. Tests *in vivo*

Le rat de laboratoire est l'animal modèle utilisé *in vivo* pour les essais de toxicité sur le développement et la reproduction. Ces tests *in vivo* évaluent l'effet hormonal des substances étudiées sur l'animal de laboratoire. Trois essais ont été validés par les laboratoires internationaux ; le test utéro trophique, le test de Hershberger et le test OCDE 407. D'autres essais existent.

A. Test utéro trophique

Il est réalisé sur des rattes immatures, par exposition cutanée ou orale au produit à tester. Trois jours après l'administration, l'utérus est prélevé et pesé. Ce test met en évidence l'effet œstrogénique ou anti œstrogénique de la substance testée [88].

B. Test de Hershberger

Il permet de détecter l'activité androgénique ou anti androgénique en mesurant les variations pondérales des organes et tissus mâles, on cite ; la prostate, les vésicules séminales, le pénis, les muscles bulbo-caverneux... [89].

C. Test OCDE 407

Une étude de quatre semaines est menée sur des rats des deux sexes. La substance étudiée est administrée à plusieurs lots de rats par voie orale et à différentes doses sur 28 jours. Ce test permet un recueil de nombreux paramètres sur les animaux morts ou sacrifiés, durant ou à la fin de l'étude, comme le déroulement des cycles œstraux, la quantité et la qualité du sperme, ainsi que le poids et l'histopathologie de certains organes ; ovaires, vagin, utérus, testicules, épидидyme [90].

D. Autres tests

– **Synthèse de la vitellogénine** : Le gène de la vitellogénine est régulé par l'œstradiol. Le test est réalisé sur des truites exposées à un milieu contenant la substance à tester. Puis le taux de vitellogénine est dosé afin de détecter une substance œstrogénique. [91].

L'EPA (Environnement Protection Agency) teste l'activité endocrinienne des produits industriels grâce à ce test de synthèse de la vitellogénine et au E-Screen.

– **Sexe des tortues** : Le sexe des tortues est déterminé par la température. Des mâles sont obtenus à une température de 26 °C et les femelles à 31 °C. L'œstradiol peut inverser cette détermination de sexe. Les œufs de tortue sont donc badigeonnés avec la substance à tester. Le sex-ratio obtenu indique si la molécule testée a une action œstrogénique [92].

I.2.8.2. Tests *in vitro*

Les tests *in vivo* posent des problèmes de coût, d'éthique, de réalisation et de quantification. C'est pour ces raisons que des tests *in vitro* ont été mis au point.

A. Test de mesure de l'activité hormonale

Ce test évalue l'affinité du produit testé pour le récepteur de l'œstradiol. La molécule à tester est incubée avec le récepteur de l'œstradiol lié à l'œstradiol radio marqué. L'avantage de cet essai est de permettre un dépistage à haut débit (environ 1000 produits par semaine) des molécules présentes sur le marché. Cependant, ce test ne permet pas de reconnaître les molécules qui agissent autrement que par une liaison au récepteur. Sur le même principe, on évalue l'affinité au récepteur à l'androgène. Ce test de liaison n'a pas été retenu par l'Union européenne [93].

B. Test des levures recombinantes

Le vecteur d'expression du récepteur de l'œstradiol ainsi qu'un gène rapporteur, contenant dans son promoteur un élément de réponse à l'œstradiol (ERE), est introduit dans les levures. Ces levures sont incubées en présence de la molécule à tester. Si cette dernière mime l'effet de l'œstradiol, elle activera le gène rapporteur. Ce test permet également de détecter l'activité androgénique [94].

I.2.8.3. Techniques analytiques de recherche des PE

De nombreuses techniques analytiques sont utilisées pour l'identification et le dosage des PE, et cela dans diverses matrices, qu'elles soient environnementales ou biologiques.

Les techniques immunochimiques sont très utilisées ; par exemple, pour permettre l'analyse du plasma contenant la vitellogénine, on utilise un test ELISA (enzyme linked immuno sorbent assay).

Les diverses analyses prennent le plus souvent place dans des matrices environnementales liquides type eau de rivière (rejet des eaux usées).

Plusieurs techniques d'extraction existent pour l'eau brute ou filtrée. L'eau peut être vectrice de perturbateurs endocriniens à double titre ; les molécules les plus solubles, ou les plus concentrées peuvent être entraînées sous forme dissoute. Pour ce qui est des molécules moins solubles ou répandues depuis un certain temps dans l'environnement, elles peuvent être associées à des particules de sol et des sédiments en suspension dans l'eau.

L'estimation de la contamination de l'eau doit apparaître dans sa globalité. Finalement, l'évaluation de la contamination de l'eau peut être envisagée sous l'angle de la concentration de l'eau en perturbateur endocrinien ou en termes d'exposition. Un préleveur automatique ou instantané (dit actif) peut être utilisé. L'emploi de capteurs passifs est également possible.

L'extraction liquide-liquide au dichlorométhane est la plus largement utilisée. Cette méthode est facile à mettre en œuvre et possède un bon rendement ainsi qu'un large spectre d'action.

Elle utilise les caractéristiques physico-chimiques de la molécule du dichlorométhane ; ce dernier est polaire, non miscible à l'eau et lipophile.

Une autre technique fait intervenir des cartouches (SPE = Solid Phase Extraction) qui fixent les molécules après passage de l'eau à analyser. Un mélange de solvants peut alors être employé pour élué ces cartouches et recueillir les molécules recherchées. La solution obtenue est de plus faible volume et constitue une étape de pré concentration. L'extraction est donc sélective concerne des molécules spécifiques, puisque tous les produits ne sont pas nécessairement, retenus par la cartouche et élués.

Une technique récente utilise un capteur passif qui intègre la contamination dans le temps. L'exposition, plutôt que le flux de contaminant est estimée. Les dispositifs se présentent sous la forme de poche SPMD (Semi-Permeable Membrane Device), ou de capteurs POCIS (pour Polar Organic Componds Integrative Samplers).

Les SPMD sont utilisés pour les composés hydrophobes (PCB, organochlorés), alors que les POCIS le sont pour les composés plus hydrophiles comme les résidus pharmaceutiques.

La quantification fait appel aux méthodes chromatographiques, à savoir la GC/MS (chromatographie en phase gazeuse à détecteur de spectrométrie de masse), la GC/MS-MS (chromatographie en phase gazeuse à détecteur de spectrométrie de masse en tandem) ou la LC/MS-MS (chromatographie en phase liquide à détecteur de spectrométrie de masse en tandem). Diverses méthodes sont décrites dans la littérature, à l'exemple des hormones qui sont extraites, après concentration sur colonne, lavage, purification sur gel de silice et élution par un solvant adéquat. L'analyse est, généralement, réalisée par GC/MS après dérivation [95,96].

CHAPITRE II : BISPHÉNOL A**II.1. Définition****II.1.1. Structure chimique**

En 1936, Dodds et al. décrivent le premier œstrogène synthétique, dépourvu de noyau phénanthrène qui est la structure commune aux stéroïdes. Ils évaluent une série de molécules diphényles et concluent que seules, celles possédant deux groupes hydroxyles en position para, présentent une activité œstrogénique ; parmi celles-ci, le **di-(p-hydroxyphényl) diméthylméthane** ou bisphénol A (BPA).

Le BPA pourrait ainsi, être la première molécule synthétique décrite ayant une activité modulatrice sélective du récepteur aux œstrogènes. Ces études structurales culminèrent en 1938 avec la découverte du diéthylstilbestrol (DES) [97].

Le bisphénol A (BPA, 4,4' -dihydroxy-2,2 - diphénylpropane en nomenclature IUPAC) (N° CAS 80-05-7) a été découvert par le chimiste russe Alexandre Dianin en 1891 ; c'est un composé de deux cycles aromatiques (phényles) liés par un pont carbone et appartient à la famille des diphénylalcane hydroxylés ou bisphénols (**figure 15**) [98].

Cette famille comprend au moins une dizaine de composés, dont les bisphénols C, AF, Fet S... [99] (voir les analogues du BPA, partie IX.2).

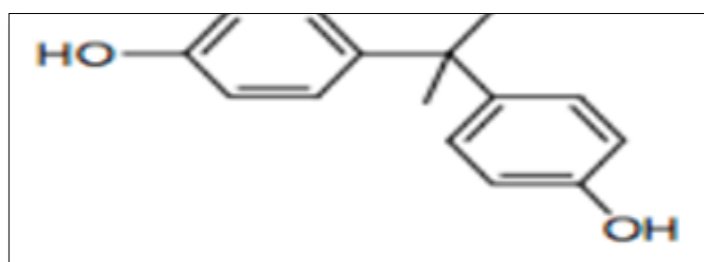


Figure 15 : Formule chimique du BPA [71].

II.1.2. Synthèse chimique

La molécule de BPA est synthétisée par condensation de deux phénols avec une molécule d'acétone. La réaction est catalysée par un acide fort comme l'acide chlorhydrique ; on peut employer une résine échangeuse d'ions comme une résine de polystyrène sulfone (**figure 16**). Dans l'industrie, un large excès de phénol est utilisé pour assurer une condensation complète [100].

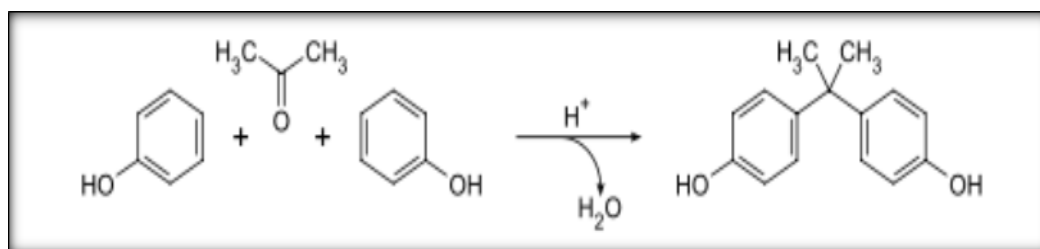


Figure 16 : Synthèse chimique du BPA

II.1.3. Propriétés physico-chimiques du BPA

Il s'agit d'un solide blanc pouvant se présenter sous la forme de poudre, d'écaillés ou de cristaux, avec une faible odeur phénolique. Ses principales caractéristiques physico-chimiques sont résumées dans le **tableau 06** [101].

Tableau 06 : Propriétés physico-chimiques du BPA [100,101]

Formule	C ₁₅ H ₁₆ O ₂
Masse molaire	228,29 Da
Point de fusion	150-157°C
Densité	1,1-1,2 à 25°C
Solubilité dans l'eau	120 à 300 mg/L à 20-25°C pH alcalin
Coefficient de partition	314 dans le sol, 1524 dans les sédiments
Constante de bioconcentration	20 à 68
Température d'auto-inflammation	51 à 227 °C
Coefficient de partage octanol /eau Log P₁₀	3,4

Le BPA est chimiquement stable dans des conditions normales. Il se décompose lentement en phénol et isopropénylphénol à température élevée. Les groupements hydroxyles lui confèrent une bonne réactivité ; il peut être transformé en éthers, esters et sels. Il produit, aussi une réaction exothermique en présence de bases fortes et de chlorures et anhydrides d'acide. Cette réaction peut-être violente et source d'incendie ou d'explosion lorsqu'il est en contact avec des oxydants puissants [98].

Le BPA est une substance relativement lipophile comme en témoigne son coefficient de partage entre l'octanol et l'eau (log Kow), compris entre 2.2- 4.16 ; cette propriété lui confère la capacité de traverser les membranes cellulaires et de se distribuer aux différents organes. Les acides faibles tels que le BPA dont le pKa est supérieur à 7,5 (pKa du BPA 9.7) sont, essentiellement, non ionisés à toutes les valeurs physiologiques de pH [102].

Le BPA n'est pas considéré comme inflammable puisque son point d'éclair se situe entre 207 et 227 °C, mais c'est un combustible solide. Dans certaines conditions, ses poussières peuvent former des mélanges explosifs avec l'air. On le stocke dans des sacs en papier ou des emballages en polyéthylène [100,103].

II.2. Production/Utilisation du BPA (figure 17)

Au début des années cinquante, sont découverts le polycarbonate et la résine époxy, obtenus par polymérisation du BPA. Une fois polymérisé, ses propriétés (haute résistance à la chaleur, caractéristiques optiques, facilité d'utilisation) en ont fait une molécule de choix dans l'industrie des plastiques.

En 1999, dans le monde, 65 % du BPA produit était utilisé dans la fabrication de polycarbonate, et environ 25 % dans celle de résine époxy. Les 10 % restant ont été utilisés dans la production de résines polyester ou de retardateurs de flamme bromés comme le tétrabromobisphénol A.

La production mondiale de BPA était de 2,2 millions de tonnes en 2003, avec une croissance de la demande attendue de 6 à 10 % par an [104].

En 2016, la production mondiale de BPA dépassait les trois millions de tonnes, utilisées aux deux tiers dans la fabrication du polycarbonate, et pour près d'un tiers, dans celle des résines. De ce fait, il est aujourd'hui omniprésent dans notre environnement, et donc présent, chez plus de 80 % de la population générale [105].

Les prévisions internationales estiment que la consommation mondiale de BPA devrait atteindre 10,6 millions de tonnes en 2022, à un taux de croissance annuel composé (TCAC) de 4,8 % entre 2016 et 2022. La région Asie-Pacifique est le plus grand marché du BPA avec 53 % de part de marché, alors que 36 % vont en Europe occidentale et aux États-Unis. Ces données indiquent une nette augmentation de la consommation de BPA malgré le fait que plusieurs pays, comme les États-Unis, le Canada et l'Union européenne, avaient interdit l'utilisation du BPA dans les contenants alimentaires [106].

En Algérie, les marchés de l'emballage, de la plasturgie de tout genre, connaissent une croissance sans précédent. L'Algérie est le deuxième importateur de technologies plastiques sur le continent africain, juste après l'Afrique du Sud. Avec une consommation annuelle d'un million de tonnes, le potentiel du marché algérien des plastiques est plus que considérable [107].

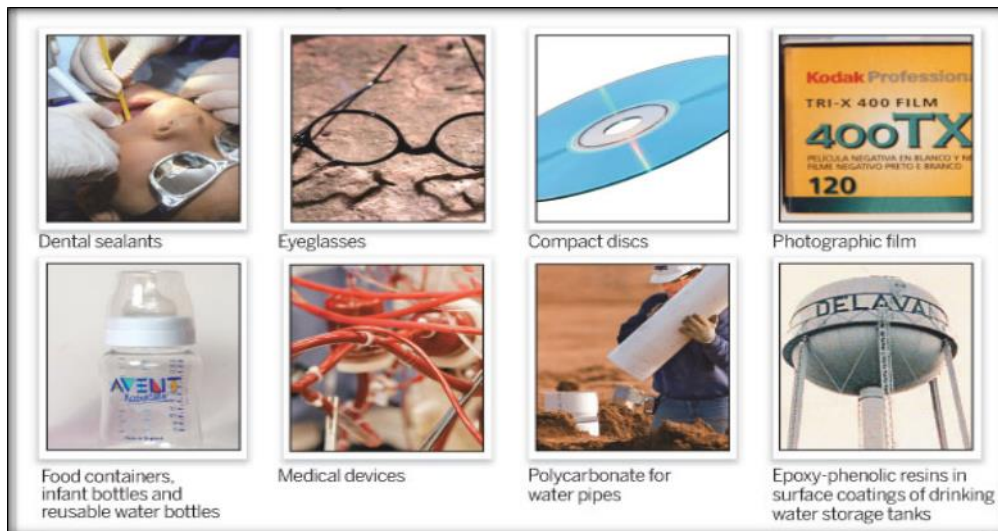


Figure 17 : Principaux usages du BPA

II.2.1. Polycarbonates

Le polycarbonate est un plastique issu de la polymérisation de 50 à 100 monomères de BPA reliés par une chaîne ester (**Figure 18**). Ce type de plastique est, facilement, identifiable par la présence du logo de recyclage contenant le chiffre N° 7 [102].

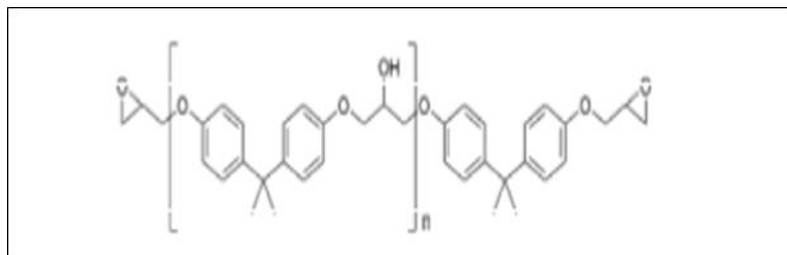


Figure 18 : Structure chimique des plastiques de type polycarbonate

Ils représentent plus de deux tiers de l'utilisation totale du BPA. Ils constituent un plastique très polyvalent, durable et transparent qui résiste à la chaleur et au choc [108].

Ces propriétés sont à l'origine de leur utilisation dans une grande variété de produits de la vie quotidienne (CDs, lunettes, équipement médical...), dont de nombreux contenants alimentaires pour lesquels ils constituent un matériau de choix comme les biberons, les boîtes en plastique pour la conservation des aliments et les bonbonnes des fontaines à eau [102].

II.2.2. Résines époxy

Ces résines sont synthétisées par polycondensation du BPA avec de l'épichlorohydrine pour former de l'éther diglycidique de BPA puis par ajout d'un agent de réticulation (**figure 19**).

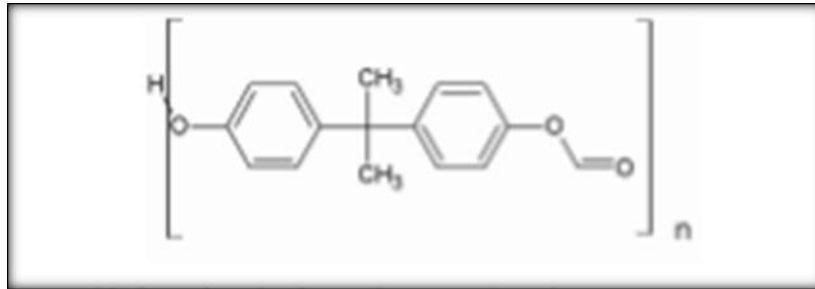


Figure 19 : Structure chimique des résines époxy-phénoliques.

Dix pour cent de la production des résines époxy est destinée au revêtement interne des boîtes de conserve, canettes de boisson, mais également des bouchons des bocaux en verre. Elles protègent les aliments et la boisson de tout contact avec le métal et évitent la corrosion ou la rouille de ce dernier [109].

Des matériaux et produits de consommation destinés à notre environnement intérieur sont, également, à base de résines époxy ; revêtement de sols, d'intérieur de containers utilisés en milieu marin, des citernes à eau ou des cuves à vin, colles, peintures, équipements électroniques et circuits électroniques imprimés entre autres [109].

II.2.3. Autres utilisations du BPA et dérivés du BPA

L'utilisation du BPA (5 % de la production totale) dans divers procédés de fabrication a également été rapportée. Le BPA est utilisé dans les papiers thermiques comme révélateur acide du leuco-colorant de l'encre contenue dans les papiers. Ce type de papier est largement utilisé dans l'impression des tickets de caisse et des factures bancaires.

Une étude, menée récemment en Suisse, a montré que 84 % des tickets de caisse testés relevaient de cette technique d'impression [110].

Le BPA est un réactif de synthèse des résines composites dentaires. Celles-ci sont composées d'un mélange de co-monomères ; bisphénol-A-glycidyl-méthacrylate (bis-GMA) et de dérivés comme le bisphénol-A-glycidyl-di méthacrylate (bis-DMA) qui modifient leurs propriétés. Elles sont utilisées pour des reconstructions dentaires [109].

Enfin, des dérivés du BPA sont retrouvés dans une grande variété de produits, soit comme antioxydant (polysulfone), comme additif ou stabilisateur des plastiques de types polychlorure de vinyle (PVC) ; on le retrouve dans différentes résines à base de phénols et dans les retardateurs de flamme bromés ; le tétrabromobisphénol A et le bisphénol A bis diphényl phosphate [102].

La large utilisation du BPA, sa présence ubiquitaire mise en évidence dans les études de bio surveillance humaine ainsi que son potentiel toxique notamment chez le fœtus, ont fait du bisphénol A l'objet de nombreuses polémiques qui ont opposé les scientifiques aux agences réglementaires [108].

II.3. Source et voies d'exposition humaine au BPA

II.3.1. Dissémination du BPA dans l'environnement

Le BPA est une substance chimique « pseudo persistante ». Malgré sa courte demi-vie, elle est ubiquitaire dans l'environnement en raison de sa dissémination continue. Celle-ci peut avoir lieu à toutes les étapes de sa fabrication dans l'industrie plastique ; synthèse, transport, stockage et traitement. La dissémination peut également avoir lieu après l'utilisation du produit par le consommateur ; fuites depuis les stations d'épuration, décharges publiques, feux domestiques et décomposition naturelle du plastique dans l'environnement [111,112].

Le BPA affecte toute la vie terrestre : les sols, les eaux, le biotope et les plantes, mais également les invertébrés, poissons, reptiles, oiseaux et mammifères. Leur contamination est plus ou moins importante selon leur habitat [111].

Certaines études, ont notamment pu mesurer des taux détectables de BPA dans des nappes phréatiques, des eaux de rivières et dans l'atmosphère. La proximité d'aires urbaines, d'usines (activités en relation avec le BPA), de décharges publiques ou de décharges plastiques est en faveur de taux plus élevés de BPA dans les échantillons prélevés [103].

Certaines données attestent de la biodégradation, relativement, rapide du BPA dans les eaux de surface et par les populations microbiennes acclimatées, ainsi que dans les eaux usées. Ainsi, 80 % à 90 % du BPA sont biodégradés en 28 jours, suivant les méthodes standards employées. Les bactéries capables de biodégrader le BPA sont présentes dans les eaux de surface et la demi-vie moyenne du BPA, dans ces eaux, est inférieure à 5 jours en moyenne [113–115].

II.3.2. Photodégradation du bisphénol A

Certaines études, s'intéressent au devenir environnemental du BPA par photo dégradation [116–118]. Neamtu et Frimmel[117] ont réalisé des tests en laboratoire afin d'évaluer la photodégradabilité du BPA dans le Rhin et dans un effluent de station d'épuration sous ultraviolet (UV). Les auteurs trouvent des demi-vies de 2,8 heures dans le Rhin et 2,3 heures dans l'effluent de la station d'épuration (probablement dues à une plus forte concentration de catalyseurs). Ces temps de demi-vie sont, extrêmement, courts comparés à ceux trouvés pour la biodégradation (1 jour à 7 jours).

Toutefois, les tests ont été réalisés sous UV uniquement et ne sont donc pas représentatifs des phénomènes dans le milieu naturel. A l'inverse, Nakatani *et al* [116] ont reproduit, dans leurs tests en laboratoire, un rayonnement équivalent au soleil à son zénith (printemps). Les temps de demi-vie, observés dans ces conditions, s'échelonnent entre 0,6 jour et 1,6 jour, valeurs plus proches de celles rapportées pour la biodégradation, mais qui demeurent inférieures à celles-ci.

Les résultats de ces deux études montrent que le BPA peut se photo dégrader dans l'environnement et que ce phénomène pourrait, même, être prépondérant dans les premiers centimètres d'eau des rivières et lacs [119].

II.3.3. Contamination humaine par le BPA

Le BPA étant exclusivement d'origine anthropique, l'exposition de la population humaine au BPA se fait par trois voies :

- Par l'ingestion d'aliments qui ont été au contact du BPA ;
- Par l'inhalation de poussières ;
- Par contact cutané avec des matériaux à base de BPA (**figure 20**).

Les sources de contamination sont diverses avec des taux variables d'une source à l'autre (**Tableau 07**).

Tableau 07 : Principales sources d'exposition au BPA .Taux rapportés dans la littérature[8].

Sources de contamination	Concentration du BPA
Environnement aquatique	8000-21000 ng/L
Air	0,002-0,208 ng/L
Poussières	800-10000 ng/g
Papier thermique	54000-79000 ng/cm ²
Viandes	17-602 ng/g
Poissons	5-109 ng/g
Fruits et légumes	9-76 ng/g
Laits infantiles	0,1 -13 ng/g
Canettes	2-82 ng/g
Matériaux dentaires	13000 -30 000 ng

L'EFSA (Autorité Européenne de sécurité des aliments), dans son rapport d'étude de 2013 conclut à une contamination prépondérante par voie alimentaire, soit par la libération de monomères suite à une polymérisation incomplète ou à une hydrolyse de la chaîne ester qui lie les monomères de BPA (dans des conditions de pH neutre ou alcalin ou au contact de liquides à haute température) [120,121].

La population présente des concentrations variables dans l'organisme ; cela va de traces à des teneurs moyennes urinaires, relativement significatives : 0,8 µg/L, au Canada ; 1,33 µg/L aux États-Unis ; 2,7 µg/L au Mexique ; 4,5 µg/L en Norvège [100].

Les concentrations moyennes sont plus élevées chez les sujets consommant plus de soda ou d'aliments conditionnés dans des boîtes de conserve. De la même façon, des bébés, nourris au sein, seraient moins exposés au BPA que des bébés, nourris au biberon, dont le lait en poudre est mis dans des conserves.

L'industrie du plastique constitue une source d'exposition professionnelle au BPA. L'Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS) français estime entre 1500 et 5000, le nombre de salariés impliqués dans la fabrication des matières plastiques de base (polycarbonates et résines époxydes), et à 1000 ceux en lien avec les autres produits (encre, fibres de verre de construction, PVC...) [122].

En Algérie, nous ne disposons d'aucune donnée relative à l'exposition générale ou professionnelle au BPA.

II.3.3.1. Exposition par voie orale

A. Dissémination dans la nourriture et les boissons

Plusieurs études, ont montré le relargage du BPA dans la nourriture et les boissons à partir de leurs contenants, bien que pratiquement impossible à quantifier de manière certaine. Différents contenants, différentes conditions d'utilisation et différents aliments et boissons ont été testés, mais les résultats obtenus varient fortement.

Le BPA serait présent, en plus grande quantité, dans la nourriture et les boissons en boîte de conserve ou en cannettes, ou encore, conservée dans des bouteilles ou des récipients en polycarbonates. Les produits frais renfermeraient moins de BPA [103].

Le BPA migre dans la nourriture et les boissons depuis les polycarbonates, par diffusion du BPA résiduel provenant de la synthèse du polymère ou par hydrolyse de ce dernier. La diffusion s'estompe au cours du temps, mais l'hydrolyse va au contraire en croissant avec l'utilisation répétée de l'objet.

Lors d'une utilisation normale de très faibles doses de BPA seraient relarguées. Cependant, lorsque de plus longues périodes de contact avec le contenu et de plus hautes températures sont testées, la libération de la molécule paraît plus importante ; c'est le cas notamment lors du chauffage du lait dans les biberons en polycarbonates [109].

La nature chimique du contenu pourrait également influencer l'hydrolyse des polymères. Ainsi, plus la solution contenue est alcaline, plus la migration du BPA serait importante. L'éthanol, dans lequel le BPA se dissout plus facilement, augmenterait la vitesse de dissémination du BPA par rapport à l'eau. Dans l'huile d'olive, qui n'affecte pas l'hydrolyse des polycarbonates, la quantité de BPA relarguée reste faible [103]. Avec le temps, la perméabilité du polymère augmenterait et l'eau pourrait s'y infiltrer, surtout lors du lavage de l'objet au lave-vaisselle [109].

Différentes études de bio surveillance illustrent et soutiennent l'hypothèse de la dissémination de BPA à partir des polycarbonates. L'une d'elles, portant sur des étudiants américains, comporte deux phases ; une phase, pendant laquelle toutes les boissons froides consommées doivent être contenues dans des récipients en plastique polycarbonate ; l'autre phase, appelée «washout phase» où toutes les boissons froides consommées doivent être contenues dans des récipients en acier inoxydable.

Chacune des phases dure une semaine. Les résultats montrent une augmentation de 69 % des concentrations urinaires en BPA après la phase d'utilisation des polycarbonates par rapport à la phase de washout [123].

Brede *et al.* ont mesuré des concentrations moyennes en BPA de 0,2, 8,4 et 6,7 µg/L après avoir testé des biberons, neufs et utilisés depuis respectivement 51 et 169 jours. Ainsi, bien que le polycarbonate soit considéré comme stable, une hydrolyse peut avoir lieu à pH alcalin ou à haute température, comme celle employée pour stériliser les biberons [121,124].

De la même manière que pour les polycarbonates, les résines époxy peuvent relarguer du BPA, suite à un processus de synthèse incomplet ; la polymérisation n'ayant pas atteint un degré suffisant, les résidus de molécule migreraient dans le contenu alimentaire.

Cette dissémination peut être significative, notamment suite au traitement par la chaleur que nécessite la stérilisation. Plus la température de stérilisation est élevée, plus les concentrations disséminées dans le contenu alimentaire seraient élevées et plus la migration serait rapide [103]. La plupart du BPA, présent en tant que résidu monomère dans la résine, migre pendant cette étape.

Certaines études ont testé les effets de la durée de stockage, à différentes températures et de l'endommagement du récipient, mais n'ont pas pu montrer une augmentation de la contamination en BPA des solutions tests [123].

La nature des aliments conditionnés interviendrait dans la dissémination de la substance ; les concentrations retrouvées varient largement entre différents aliments d'une même famille (entre deux légumes différents - entre deux aliments identiques, mais de lots ou de marques différentes). Ceci pourrait être, également, expliqué par des variations dans le choix des résines utilisées pour le revêtement des récipients. Le BPA migre mieux dans la partie liquide ou solide du contenu alimentaire selon la nature chimique de ce dernier, sans que l'on puisse expliquer totalement le phénomène [109].

Plusieurs études de bio surveillance illustrent cette migration. Dans l'une d'entre elles, le BPA fut mesuré dans les urines de 75 volontaires après un régime de 5 jours, à base d'aliments frais et, dans un deuxième temps, après un régime de 5 jours à base de soupe en boîte. Une augmentation de 1200 % des concentrations a été observée après la phase de consommation de la soupe en boîte (par rapport aux concentrations mesurées chez ces mêmes personnes avant l'expérience) [109].

La contribution des aliments et boissons non conditionnés (dans des emballages en polycarbonates, des boîtes de conserve ou des cannettes en aluminium avec un revêtement interne en résines époxy) ne sont pas très bien connues. Cependant, du BPA a été mesuré dans de la levure du fromage, du pain, des céréales ou encore de la nourriture de fast-food. Les emballages en papier, notamment les films plastiques en PVC, pourraient être à l'origine de cette contamination, ainsi que les équipements et récipients utilisés lors de la production du produit [109].

L'apport journalier alimentaire de BPA serait inférieur la DJA (Dose Journalière Admissible) actuelle de 4 µg/kg/j. Cependant, on suspecte les faibles doses de BPA d'avoir également des effets néfastes sur la santé [109].

B. Autres sources d'exposition par voie orale

La contamination par voie orale peut avoir lieu par un dépôt de BPA sur les doigts ; ces derniers contaminent les aliments ; ils sont portés à la bouche, comme c'est très souvent le cas chez les jeunes enfants. La contamination de la poussière à l'intérieur des habitations a été mise en cause ; le BPA peut émaner de tous les appareils électroménagers ou matériaux utilisés pour la construction du logement.

Cette situation se retrouve également chez les personnes en contact avec le papier thermique utilisé dans l'impression des tickets de caisse, comme les vendeurs ou les caissières de supermarchés. Les jouets et tétines pour bébé peuvent également être mis en cause lorsqu'ils contiennent des polycarbonates.

Une autre voie de contamination concerne les résines composites dentaires. Celles-ci peuvent relarguer le BPA par simple diffusion des monomères de BPA résiduels de la synthèse ou par hydrolyse du polymère due à des estérases présentes dans la salive. On rapporte une décroissance dans le temps des taux de BPA salivaire depuis la pose. Ainsi, la contamination par les résines dentaires semble être un événement aigu.

Toutefois, la fuite chronique de BPA dans la salive n'a pas été évaluée sur le long terme. A cela s'ajoute le fait que les études qui se sont intéressées à ce sujet ne présentaient pas une limite de détection, suffisamment faible pour rechercher les très faibles teneurs de BPA, probablement relarguées par hydrolyse chronique du polymère [109].

II.3.3.2. Exposition par inhalation

La voie respiratoire ne semble pas être une voie majeure d'exposition humaine au BPA. En raison d'une pression d'évaporation faible, d'un point de fusion haut et d'une solubilité modérée la volatilité de la molécule de BPA devrait être faible. Sa concentration dans l'air ambiant serait faible. Moins de 1 % du BPA présent dans l'environnement se trouverait dans l'atmosphère, où l'on pense qu'il subit une photo-oxydation rapide [110]. Sa demi-vie atmosphérique est courte (0,2 jour) [109].

Les poussières d'intérieur peuvent être contaminées ; 86 % des échantillons de poussières prélevés dans des maisons étaient positifs selon certains auteurs [123].

II.3.3.3. Exposition par voie cutanée

Selon plusieurs études, le BPA serait capable d'infiltrer la peau jusqu'à une profondeur telle qu'il ne serait plus possible de l'éliminer par lavage à l'eau.

Des études ont analysé les urines de caissières, quotidiennement en contact cutané avec le papier thermique des tickets de caisse. Leur taux urinaire de BPA était plus élevé que celui de la population générale [125].

Enfin, des scientifiques ont testé la quantité de BPA transférée à la surface de la peau, après avoir tenu un ticket de caisse en papier thermique pendant 5 secondes. Lorsque les doigts sont mouillés ou gras, la quantité transférée est dix fois plus importante. [109].

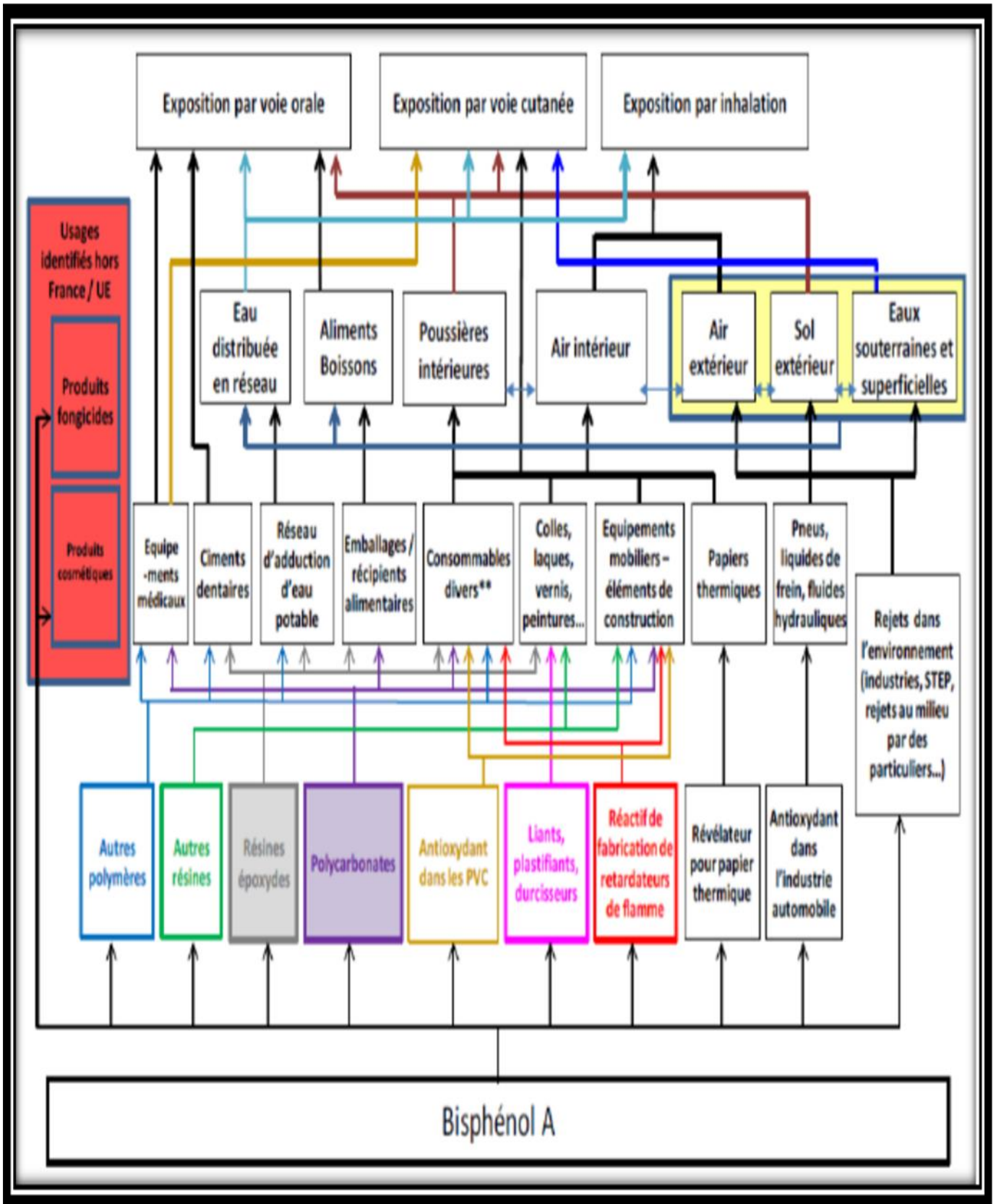


Figure 20 : Différents cas de figure à l'origine de l'exposition interne humaine au BPA [108].

II.4. Mesures réglementaires

Au vu des inquiétudes soulevées par cette substance, les organismes internationaux de santé ont soumis le BPA à des réglementations : le Canada est devenu, le 11 mars 2010, le premier pays dans le monde à interdire les biberons contenant du BPA. Aux États-Unis, plusieurs états ont interdit le BPA dans les biberons et les emballages.

En France, l'utilisation du bisphénol A a fait l'objet d'un encadrement juridique croissant. Depuis juin 2010, tous les biberons, produits à partir de BPA sont interdits de fabrication et d'importation en Europe [126].

Dès le 1er janvier 2015, l'interdiction s'est appliquée à tout contenant renfermant du BPA ou ustensile amené à entrer en contact avec n'importe quelle denrée alimentaire [127,128].

De surcroît, sur une proposition de la France, la Commission Européenne a modifié l'annexe XVII du Règlement REACH ; ainsi, ne pourront être mis sur le marché européen les papiers thermiques (facturettes, papier pour télécopieur fax...) comportant plus de 0,02 %, en masse, de bisphénol A. Datée du 12 décembre 2016, la décision est rentrée en vigueur en janvier 2020 [129] (**figure 21**).

Le 19 décembre 2016, le bisphénol A a été identifié, par le Comité des États membres, en tant que SVHC (Substance of Very High Concern) du fait de ses propriétés reprotoxiques. Depuis le 16 juin 2017, le bisphénol A a de nouveau été identifié SVHC, mais cette fois-ci pour ses propriétés de perturbateur endocrinien. De cette décision, résulte l'ajout du bisphénol A à la liste des substances candidates à l'annexe XIV de la réglementation REACH (Concernant les substances pour lesquelles une autorisation est nécessaire afin de pouvoir les mettre sur le marché au sein de l'Union européenne) [130].

La dose de BPA sans effet toxique (NOAEL : No Observed Adverse Effect Level) avait été établie à **5 mg/kg/j**. Ensuite, la dose journalière admissible ou tolérée (DJA) avait été fixée chez l'Homme dans un premier temps à 50 µg/kg/j, avec un coefficient de sécurité de 100 [131]. Il a été cependant rapporté des effets du BPA, à des doses bien inférieures, notamment, chez l'animal [126,128,131].

L'EFSA a alors réduit temporairement cette DJA à **4 µg/kg/j**, dans l'attente d'une nouvelle étude de réévaluation menée par l'U.S. National Toxicology Program [132].

Le premier février 2018, une proposition de refonte de la directive européenne 98/83/CE, relative à la qualité des eaux destinées à la consommation, introduit pour la première fois une notion de valeurs limites pour le BPA. Ainsi, les concentrations en BPA ne devront pas excéder 0,01 µg/L, dans ces eaux [133].

Tout récemment en France, l'interdiction de certains produits en plastique à usage unique (cotons tiges, pailles, assiettes et gobelets jetables), à compter du **1er janvier 2020**, est précisée par un décret publié au journal officiel. Ce décret d'application fait suite aux dispositions de la loi Egalim d'octobre 2018, qui a décidé de l'abandon de ces produits plastiques. Toutefois, lors de l'examen au parlement de la loi contre le gaspillage et pour l'économie circulaire, il a été prévu que certains des produits seront interdits en 2021, pour être en conformité avec le droit européen[134].

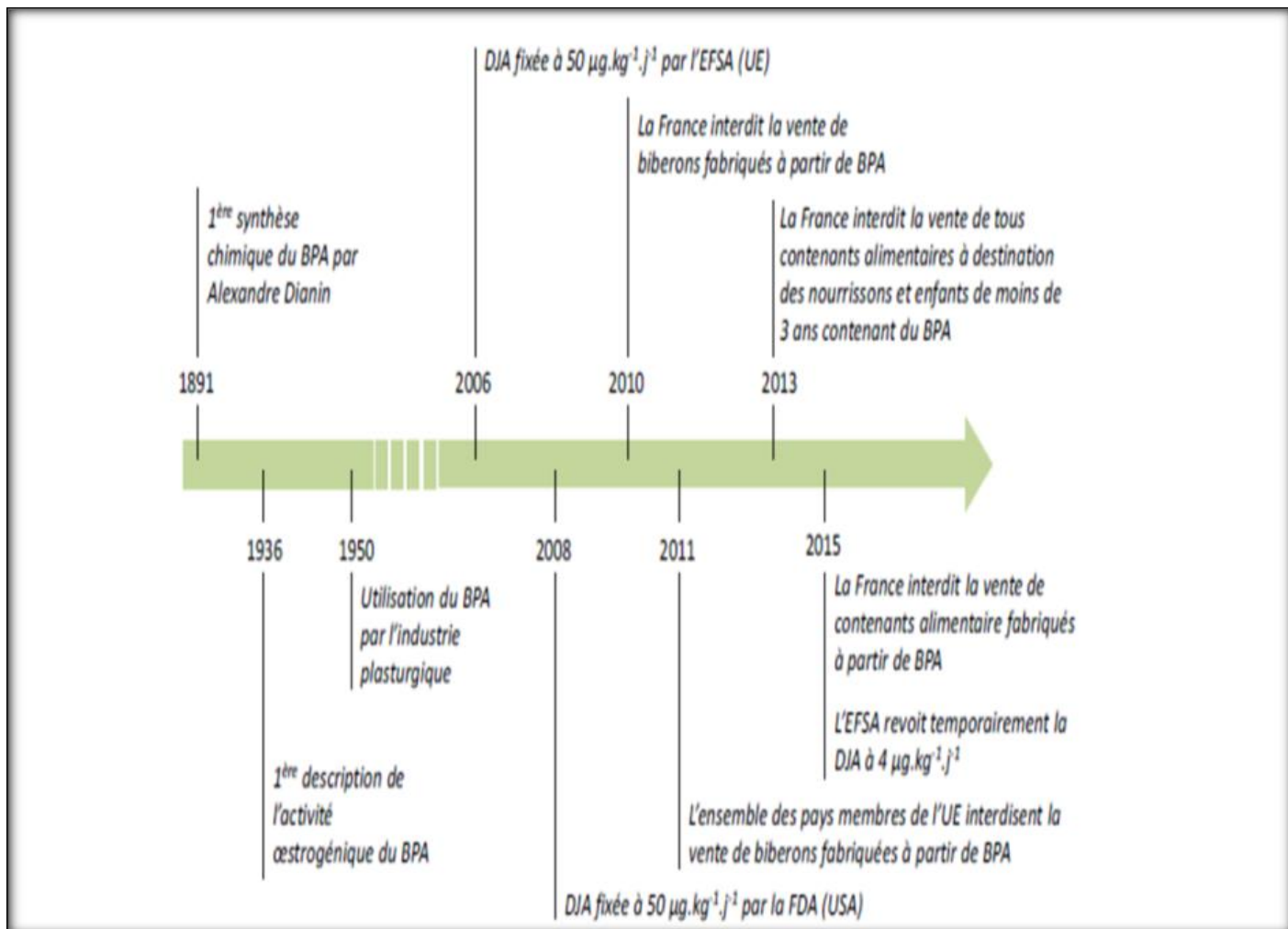


Figure 21 : Évolution des réglementations mises en place visant à réduire l'utilisation du BPA [133]. DJA : Dose Journalière Acceptable ; EFSA : European Food Safety Administration

La Valeur Limite d'Exposition professionnelle (VLEP) aux poussières inhalables de BPA, établie par l'Union Européenne, est de 10 mg/m^3 en moyenne sur 8 heures du fait de l'action perturbatrice endocrinienne du BPA observée chez l'homme et de l'absence de données permettant la surveillance médicale de sujets exposés. L'INRS préconise de surveiller chez les salariés exposés, régulièrement et dès l'embauche, d'éventuelles atteintes thyroïdiennes ou hématologiques ainsi que d'éventuelles difficultés à procréer [135] (**tableau 08**).

Situation en Algérie

En Algérie, le BPA semble être une substance méconnue par le public et les professionnels de la santé. Son utilisation dans les produits d'emballage ne fait l'objet d'aucune réglementation spécifique, que ce soit pour les produits à usage courant ou en milieu industriel. Le seul texte existant correspond à l'arrêté interministériel de 2016 relatif à l'interdiction de l'usage du BPA dans les biberons et ustensiles pour les nourrissons (article 9 du règlement technique fixant les exigences de sécurité des articles de puériculture) [136].

De même qu'il n'existe pas d'études algériennes se rapportant à l'exposition et/ou aux effets du BPA chez la population générale ou chez les groupes de sujets professionnellement exposés comme les employés de l'industrie des matières plastiques.

Tableau 08 : Notions et valeurs définies par les autorités sanitaires européennes nécessaires à la compréhension de la réglementation concernant l'utilisation et l'exposition du BPA [108].

Notions	Définitions	Valeurs	Origines
DJA	= Dose Journalière Admissible ➤ Estimation de la quantité de BPA qui peut être ingérée chaque jour durant toute la vie, sans effet néfaste appréciable sur la santé (valable pour toutes sources d'exposition confondues)	50 µg/kg/j = DJA recommandée jusqu'en 01/2014 4µg/kg/j = DJA temporaire recommandée depuis 01/2014	Définie par l'EFSA au niveau européen DJA=NOAEL/100
NOAEL	= No Observed Adverse Effect Level ➤ Dose la plus élevée sans effet délétère observable	5 mg/kg/j D'après Tyl et al. 2002 ; 2008	Etablie dans un modèle rongeur dans des études toxicologiques réglementaires
LMS	= Limite de Migration Spécifique ➤ Quantité maximale de migration de BPA à partir d'un matériau dans le milieu avec lequel il est en contact	0.6 mg/kg d'aliments	Dépend de la Directive 2004/19/CE

II.5. Toxicocinétique du BPA

II.5. 1. Absorption

Le BPA pénètre dans l'organisme, principalement, par voie orale via l'alimentation contaminée (environ 90 %), mais aussi par voie cutanée (absorption de l'ordre de 27 % ; allant de 2 % à 50 %) ; l'absorption respiratoire (par le biais de particules contaminées) n'est pas quantifiée chez l'Homme [137].

Chez les espèces animales étudiées, la biodisponibilité du BPA par voie orale est faible. Elle a été estimée entre 2,8 et 16,4 % chez le rat [138,139] et à 0,94 % chez le singe Rhésus [138].

Cette faible biodisponibilité est à l'origine des concentrations plasmatiques faibles ou non quantifiables dans plusieurs études, où le BPA a été administré par voie orale à faible dose [140–143].

La faible biodisponibilité du BPA peut être liée à un défaut d'absorption (solubilité et/ou perméabilité du BPA) ou à un fort effet de premier passage. Compte tenu de ses propriétés physico-chimiques après administration orale, le BPA est probablement transporté par diffusion passive depuis la lumière du tractus gastro-intestinal vers les veines mésentériques jusqu'à la circulation porte hépatique. En tant qu'acide faible, le BPA sous forme non ionisée au pH intestinal, peut facilement être absorbé à partir de l'estomac et des parties hautes de l'intestin grêle, où il peut être glucuroconjugué chez le rat [144].

Globalement, l'absorption gastro-intestinale du BPA semble rapide et complète chez toutes les espèces qui ont été étudiées. Ce qui suggère que la faible biodisponibilité du BPA pourrait être plutôt liée à un fort effet de premier passage hépatique et/ou intestinal [145].

II.5.2. Distribution

Il a été montré que le BPA est très fortement lié aux protéines plasmatiques chez les rongeurs, le singe et l'Homme. La fraction liée représente 90 à 95 % et la fraction libre entre 5 et 10 % du BPA total [146,147]. Le BPA est lié majoritairement et de façon non spécifique à l'albumine [51], même si une liaison spécifique à la SHBG (*Sex Hormone Binding Globulin*) [148] et à l'alpha foetoprotéine a été rapportée [149].

La distribution tissulaire du BPA a été étudiée chez le rat après des administrations répétées de BPA par voie intraveineuse. Les données ont été ajustées et simulées à l'aide d'un modèle PB-PK. Les plus fortes concentrations en BPA ont été retrouvées respectivement dans l'intestin grêle, puis le foie, l'estomac, le cerveau, les reins, les poumons, les testicules, la rate, le cœur, le muscle, le sang et le tissu adipeux [149].

Le caractère modérément lipophile du BPA explique sa large distribution dans l'organisme avec des volumes de distribution chez la souris et le chien respectivement de 0,1 litre et 20 litres [165]. L'application de ce modèle PB-PK à l'Homme a permis d'estimer le volume de distribution à l'équilibre du BPA à 141,8 litres [149].

II.5.3. Métabolisme

Chez l'Homme, le métabolisme du BPA comporte encore de nombreuses zones d'ombre. De manière générale, le métabolisme du BPA met en jeu des réactions enzymatiques dont la glucuronidation (UDP glucuronosyltransferase, UGT) ou la sulfoconjugaison, qui consistent à ajouter un groupement, généralement hydrosoluble (acide glucuronique ou dérivé sulfate), par l'enzyme [140,150–152] (**figure 22**)

Ainsi, le principal métabolite du BPA est le BPA - glucuronide (BPA-G), dépourvu d'activité œstrogénique [153]. Le BPA-G est rapidement éliminé de la circulation générale et excrété dans les urines. Le métabolisme de biotransformation du BPA en BPA - G représente donc, un mécanisme de détoxification de l'organisme [154].

Chez les rongeurs, le métabolisme est différent. Après glucuronidation, dans le foie, le BPA-G est excrété dans la bile et retourne à l'intestin. Il est hydrolysé par des bactéries intestinales possédant une activité de glucuronidase pour subir, après un nouveau cycle, une élimination dans les fèces [147,152].

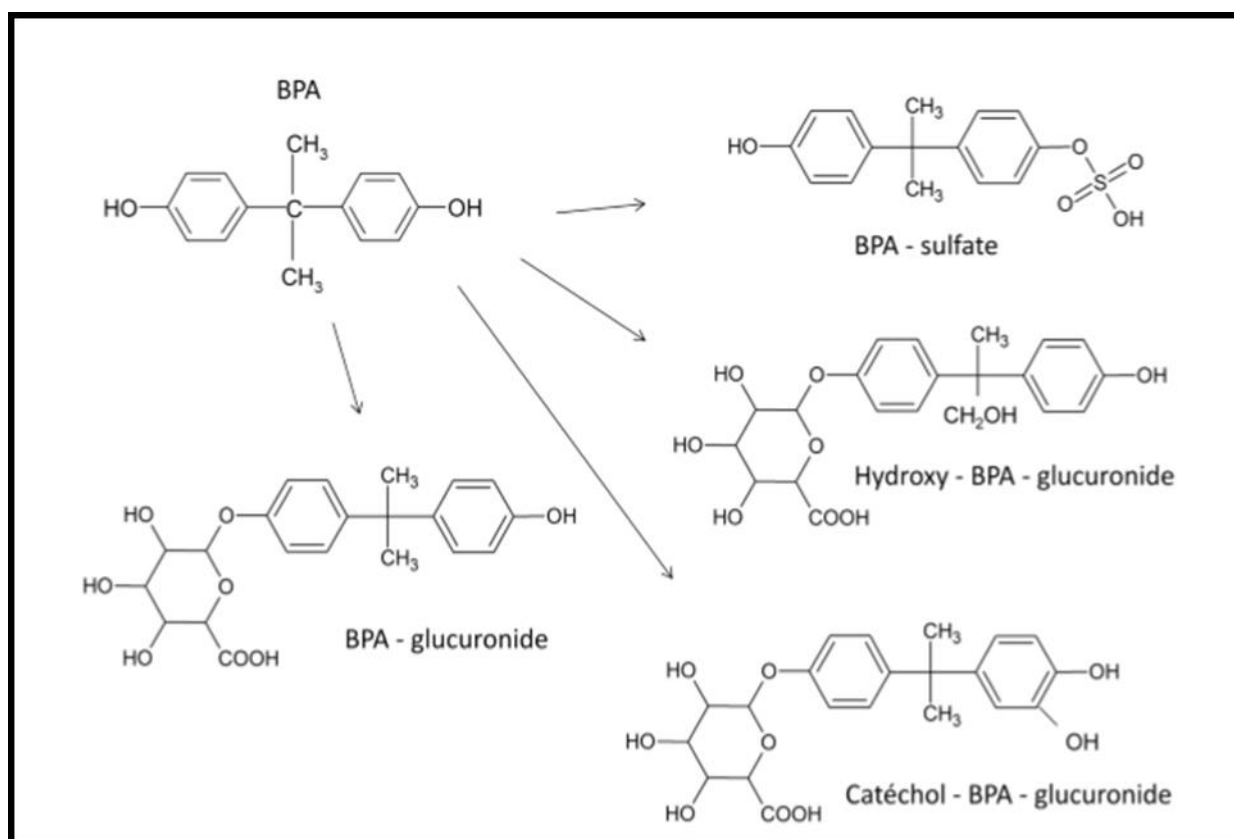


Figure 22 : Différentes voies de métabolisme chez les mammifères [112].

Ce processus n'est pas décrit chez l'Homme, mais la possibilité d'une dissociation du BPA-G, au niveau de plusieurs tissus périphériques, ne peut être exclue ; du BPA libre étant retrouvé dans les urines. En effet, l'enzyme bêta glucuronidase, responsable de la déconjugaison du BPA-G, est présente dans la plupart des tissus humains, en particulier dans le placenta et le foie fœtal [155].

Chez les rongeurs et les primates, le métabolisme semble assez similaire. En effet, une étude récente a comparé les niveaux sériques de BPA libre et de BPA-G chez le singe Rhésus mâle et femelle, et chez la femelle souris, après administration orale de BPA [156]. Ils décrivent une cinétique de dégradation du BPA libre similaire entre le singe et la souris, suggérant que la souris est un bon modèle pour prédire les niveaux de BPA-G dans le sérum après exposition au BPA, chez l'humain.

Il existe une seconde voie, moins documentée, dans le métabolisme du BPA, la sulfatation. Elle génère du métabolite BPA-sulfate en quantité minoritaire, et qui ne possède pas d'activité œstrogénique [157].

D'autre part, la possibilité de réactions enzymatiques d'oxydation a également été étudiée *in vitro*, mettant en jeu des enzymes de la famille des cytochromes P450, principalement la sous-famille des CYP2C. La métabolisation du BPA par les cytochromes P450 conduit à la formation de métabolites, dont l'isopropenylphenol qui aurait une activité œstrogénique équivalente à celle du BPA [158].

Le BPA est capable de traverser la barrière placentaire compte tenu de l'immaturation du système hépatique de détoxification et d'élimination de substances telles que le BPA chez le fœtus. La période périnatale est considérée comme la période à risque [159].

II.5.4. Elimination

Chez les rongeurs, un cycle entérohépatique du BPA a été mis en évidence. En effet, suite à l'administration de BPA, le xénobiotique est, partiellement, conjugué dans le foie puis une partie du BPA-G formé, est éliminé dans le canal cholédoque avec la bile et rejoint le tube digestif [152].

Certains éléments de la flore digestive sont capables de dé-conjuguer le BPA-G, d'où une libération de BPA dans les portions terminales du tube digestif. Une partie de ce BPA est alors réabsorbée, expliquant ainsi les observations faites par Doerge *et al.* qui avaient constaté plusieurs rebonds de concentrations plasmatiques, après administration orale de BPA chez le rat [160].

Le BPA est principalement éliminé sous forme de BPA-G (à raison de 90 %, environ), mais également sous forme de BPA-S. Une étude menée sur des hommes de 54 à 90 kg met en évidence une clairance plasmatique du BPA-G de 0,13 L/min après ingestion de 5 mg de BPA, ce qui correspond approximativement à la clairance en créatinine d'un adulte sain (0,12 L/min) suggérant une élimination du BPA-G par filtration rénale [142].

Du fait de la présence d'un cycle entérohépatique du BPA, sa demi-vie d'élimination plasmatique est plus importante chez les rongeurs ; de l'ordre de 24 à 48 h chez le rat [153], alors qu'elle est inférieure à 1 h chez l'Homme [151].

Chez les nouveau-nés

Plusieurs voies métaboliques et plusieurs fonctions excrétrices ont une efficacité plus faible chez le nouveau-né par rapport à l'adulte, augmentant la toxicité de la substance. La glucuronidation est 2 à 5 fois plus faible chez les prématurés et la filtration glomérulaire 1,7 fois plus faible.

Ces différences s'atténuent au cours du temps et les pleines capacités de métabolisation et d'excrétion des nouveau-nés sont atteintes, respectivement à 1 mois et 7 mois. L'EFSA a cependant conclu que la présence de sulfo-transférases (SULT) actives et fonctionnelles à la naissance permettait une détoxification efficace et suffisante de la substance en BPA-sulfate inactif [161].

Selon Clark *et al.* pour les anions organiques tels que les glucuronoconjugués, le poids moléculaire seuil à partir duquel l'élimination biliaire devient appréciable, est de l'ordre 200-300 g/mol chez le rat, 400 g/mol chez le cobaye, 475 g/mol chez le lapin et 500-600 g/mol chez l'Homme [162].

Il est, généralement, admis qu'il existe de grandes variabilités inter-espèces dans l'élimination biliaire des substances présentant un poids moléculaire intermédiaire (entre 300 et 600 g/mol), comme le BPA-G. On distingue ainsi, des faibles excréteurs biliaires (Homme et lapin), des excréteurs biliaires forts (rat et chien) et des excréteurs intermédiaires (mouton, chat) [163].

Chez les excréteurs biliaires, plus le poids moléculaire de la substance est élevé, plus son élimination biliaire sera favorisée par rapport à l'élimination urinaire. En raison de son poids moléculaire (404 g/mol), le BPA-G serait principalement éliminé dans les urines, chez l'Homme et le lapin, alors qu'il serait éliminé en partie *via* la bile chez le chien, le rat et le cobaye [145].

II.6. Mécanisme d'action du BPA (figure 24)

La connaissance des mécanismes d'action du BPA est un élément important à prendre en considération si l'on veut pouvoir transposer à l'Homme les effets observés chez l'animal.

L'ensemble des mécanismes d'action du BPA ne sont certainement pas encore connus. Cependant, un nombre croissant d'études *in vitro*, ou moléculaires suggère que l'interprétation des effets toxicologiques du BPA ne peut se limiter à un mécanisme œstrogénique classique ; le BPA pourrait également interagir avec d'autres récepteurs cellulaires [164].

II.6.1. Activité œstrogénique

La similitude de structure du BPA avec l'œstradiol (**figure 23**) explique ses effets hormonaux. Il est considéré comme un xœstrogène faible.

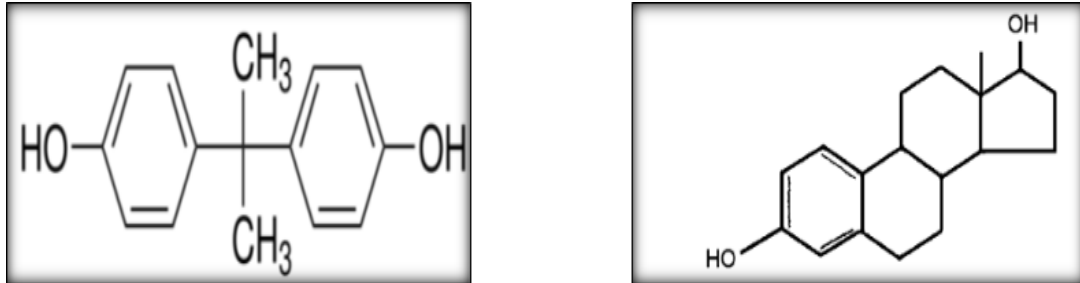


Figure 23. Formules chimiques du bisphénol A et de l'œstradiol.

Le BPA se lie aux récepteurs nucléaires aux œstrogènes (ER) ER α et ER β , avec une affinité beaucoup plus faible pour le BPA que pour le 17- β -œstradiol : 10 000 fois plus faible pour ER α et 1000 fois plus faible pour ER β [165].

Différentes actions peuvent résulter de l'activation de ces récepteurs : une action non génomique (action rapide), ou une action génomique (effet plus long à mettre en place).

Le BPA se lie également à des récepteurs membranaires des œstrogènes : les récepteurs transmembranaires des œstrogènes mER α et mER β , ayant la même affinité pour le BPA que leurs équivalents nucléaires. Le BPA peut se fixer aussi au récepteur transmembranaire couplé à la protéine G, GPR30 [166].

Le GPR30 est présent dans le réticulum endoplasmique des cellules cancéreuses du sein, des cellules β des îlots de Langerhans et des adipocytes ; il présente une forte affinité pour le BPA, qui s'y lie à faible concentration. Ce récepteur aurait une action proliférative [167].

Le BPA, présente ainsi, une action œstrogéno-mimétique. Néanmoins, son action dans l'organisme n'est pas, toujours, identique à celle de l'œstradiol. Dans certains tissus, il aura un rôle agoniste des œstrogènes, et dans d'autres, il aura un rôle antagoniste [168] : ces caractéristiques le font entrer dans la catégorie des « modulateurs sélectifs des récepteurs aux œstrogènes » (SERM).

Kurosawa *et al.* ont démontré que le BPA a une activité obligatoirement agoniste des œstrogènes quand il agit sur le récepteur ER β et une activité mixte (agoniste ou antagoniste, selon les cas) lorsqu'il agit via le récepteur ER α [169].

La gamme des effets induits par le BPA est bien plus importante que prévu, et ce, suite à son activation du récepteur apparenté aux récepteurs des œstrogènes- γ (ERR γ). Les effets métaboliques du BPA, décrits jusqu'à présent dans le contrôle de la production d'insuline,

pourraient être liés à une activation anormale de ce récepteur et non des récepteurs des œstrogènes. En effet ERR γ est un régulateur important du métabolisme ; il a été récemment impliqué dans le contrôle de la sécrétion d'insuline chez la souris. Dans le foie, ERR γ régule l'expression des gènes de la gluconéogenèse.

Ce récepteur est, également, impliqué dans le métabolisme, au niveau du cœur et des muscles squelettiques. ERR γ pourrait être un acteur majeur de l'obésité induite par le BPA, chez les nourrissons [170].

II.6. 2. Activité anti androgénique

Bien que la première activité décrite pour le BPA soit œstrogénique, une activité antagoniste au récepteur nucléaire des androgènes (AR) a également été démontrée *in vitro* ; avec une affinité de l'ordre du micromolaire [187-188].

Cependant, la manière dont le BPA exerce son activité anti-androgénique n'est pas, clairement, définie. Le BPA pourrait interférer avec la testostérone et la dihydrotéstostérone et bloquer leurs liaisons à l'AR [157].

II.6. 3. Autres activités (antithyroïdienne et sur l'ADN)

Le BPA est suspecté d'avoir une action antagoniste sur la transcription des gènes stimulés par l'hormone thyroïdienne T3. Une étude menée sur des cellules humaines (aux concentrations de 100 nM et de 1 μ M) rapporte la capacité du BPA à perturber la fonction thyroïdienne, à l'intérieur des cellules en déplaçant T3 de son récepteur [123].

Le BPA est, également, suspecté d'altérer la signalisation cellulaire et d'induire un stress oxydant, avec production de radicaux libres par la cellule et génération d'une inflammation. Au niveau de l'ADN, des dommages sont observés : formation d'adduits et mutation de gènes, ainsi que des aberrations chromosomiques.

Le BPA pourrait être impliqué dans l'induction d'effets épigénétiques. Ces effets sont héréditaires et aboutissent à des modifications des phénotypes cellulaires et de l'expression de gènes. Il n'y a pas d'altération de l'ADN, mais celui-ci peut-être méthylé ou déméthylé ; les histones peuvent être modifiées et de l'ARN non codant peut être exprimé [165].

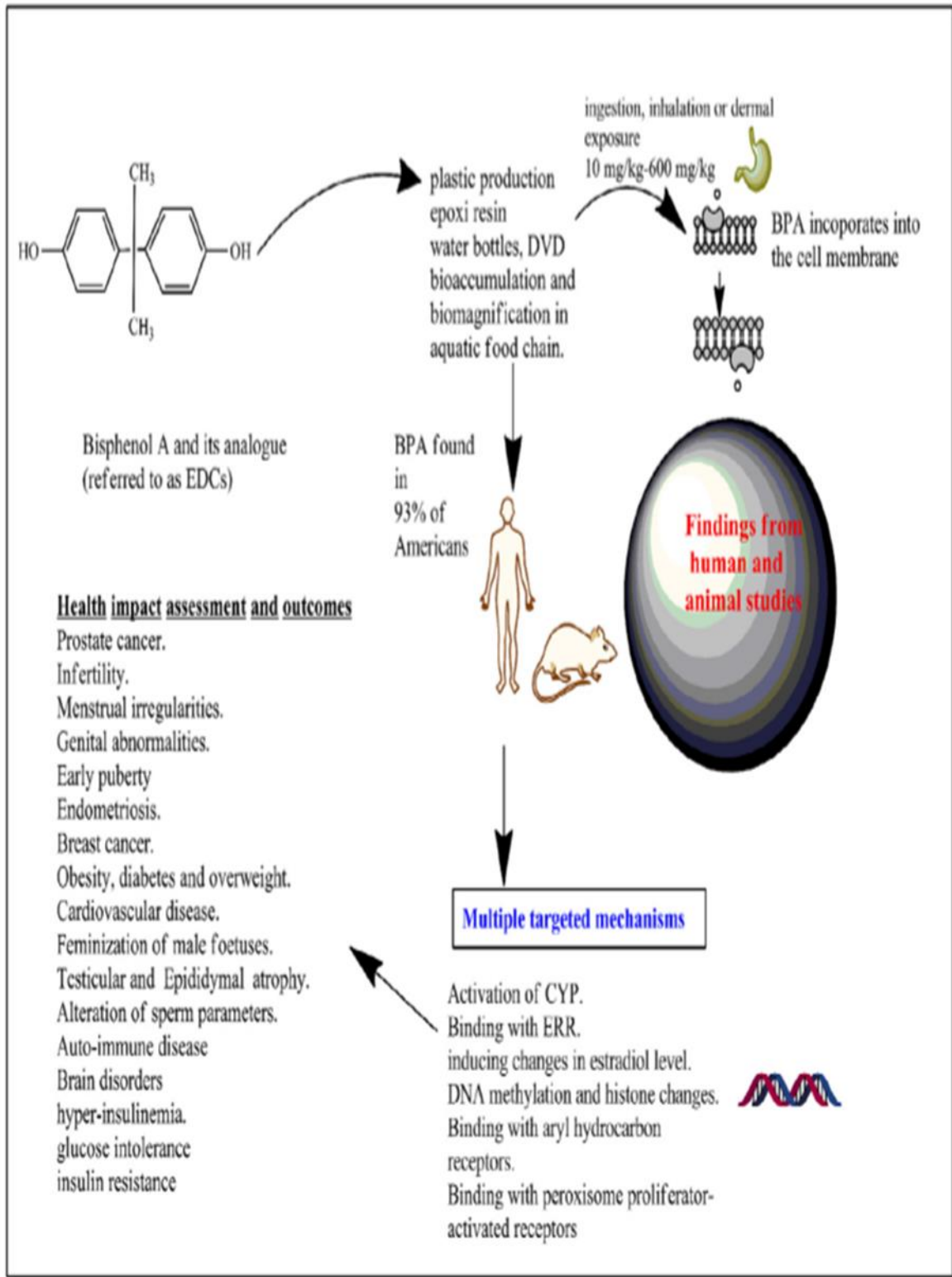


Figure 24 : Résumé du mécanisme d'action toxique du BPA et l'impact sur la santé humaine [171].

II.7. Impact de l'exposition au BPA sur la santé humaine (Tableau 09)

II.7.1. Maladies métaboliques

II.7.1.1. Diabète de type 2, obésité et syndrome métabolique

Trois cent quarante-sept millions de personnes sont diabétiques dans le monde, et la mortalité de cette maladie devrait atteindre le 7^{ème} rang du classement des principales causes de mortalité dans le monde d'ici 2030 [172]. Il s'agit donc d'un problème majeur de santé publique pour tous les pays du monde.

Les facteurs de risque de développement de la maladie comprennent des causes génétiques, mais également environnementales : le style de vie et les habitudes hygiéno-diététiques des patients sont des facteurs déterminants dans l'apparition de la maladie. L'exposition à des xénobiotiques a été également suggérée comme facteur contribuant au développement de la maladie [173].

Les études *in vitro* et *in vivo* ont montré que le BPA était capable d'affecter le métabolisme du glucose, en induisant notamment une résistance à l'insuline, une dysfonction des cellules β pancréatiques, des troubles de l'adipogenèse, une inflammation et un stress oxydant [173].

Une étude, utilisant les données de la NHANES (National Health And Nutrition Examination Survey) de 2003 à 2008, a mis en évidence une forte association entre concentrations urinaires de BPA et le diabète de type 2, chez les personnes obèses ou non et fumeuses ou non. D'autres études, asiatiques, ont pu montrer que de plus hauts taux de BPA urinaires étaient corrélés à une augmentation de la résistance à l'insuline [174].

Une corrélation positive a, également, été vérifiée entre les taux urinaires de BPA et un état de pré diabète, dans une population de patients ne présentant pas de facteurs de risque de la maladie (IMC élevé, consommation d'alcool, hypertension artérielle et dyslipidémie). Il a été suggéré que l'exposition au BPA pourrait promouvoir d'autres facteurs de risque du diabète comme l'obésité, en ayant un effet sur les circuits neuronaux régulant la façon dont l'individu se nourrit, ou en perturbant la différenciation des adipocytes [173].

En effet, *in vitro*, de faibles doses de BPA inhibent la sécrétion d'adiponectine par les adipocytes et stimulent la sécrétion d'interleukine-6 et de TNF α , deux adipokines inflammatoires. Ces trois substances ont des effets dans la régulation de l'homéostasie du glucose et les régulations métaboliques. Cela suggère une implication possible du BPA dans la résistance à l'insuline, elle-même entraînant une augmentation de l'IMC et favorisant le syndrome métabolique. Ses effets sont, également, délétères sur la balance énergétique et l'homéostasie du glucose, de par son action sur le foie, le tissu adipeux et les îlots pancréatiques [167].

Tous ces résultats sont, cependant, difficiles à interpréter, car on ne sait pas s'il existe, vraiment, un lien causal (on ne peut pas le prouver, car toutes ces études sont transversales) entre exposition au BPA et obésité. Certains auteurs se sont demandé si l'augmentation des taux urinaires de BPA ne serait pas due à un apport calorique plus important, ou à une plus grande consommation de sodas en cannettes. Une autre hypothèse, pouvant expliquer, en partie, ces résultats, serait l'augmentation du volume du tissu graisseux observée dans l'obésité, tissu dans lequel la substance s'accumule et d'où elle serait relarguée en continu. Toutefois, quelques expérimentations *in vitro* et certaines études épidémiologiques ne tendraient pas à confirmer ces hypothèses [174].

II.7.1.2. Maladies cardiovasculaires

L'exposition au BPA semble être corrélée à la présence de maladies coronariennes. En effet, les taux urinaires de BPA semblent être plus importants chez des patients présentant de sévères sténoses des coronaires. Des taux urinaires plus importants de BPA ont été également associés à une hypertension et à des diagnostics plus fréquents d'angine de poitrine, de maladies coronariennes et d'infarctus du myocarde. Aucun lien de causalité n'a cependant été avancé [173,174].

Des études expérimentales ont suggéré qu'une exposition chronique à de « faibles doses » de BPA peut affecter le fonctionnement physiologique du système cardiovasculaire et favoriser des dysfonctionnements, tels que les arythmies, l'athérosclérose et l'altération de la pression artérielle[106].

Dans une étude prospective avec une période de suivi supérieure à dix ans, les patients les plus exposés au BPA à un moment antérieur avaient significativement plus d'hospitalisations pour des maladies coronariennes et/ou sont décédés lors du suivi. Une augmentation du BPA urinaire a également été signalée chez les patients atteints de la maladie coronarienne la plus grave après l'angioplastie. D'autres études épidémiologiques ont trouvé une association entre une exposition élevée au BPA et une aggravation des maladies cardiaques, notamment l'infarctus du myocarde[106].

En résumé, l'exposition au BPA altérerait les performances cardiaques de manière dose-dépendante, et aurait un impact négatif sur la conduction électrique, le mouvement intracellulaire du calcium, et la contractilité ventriculaire[106].

II.7.1.3. Atteinte de la fonction thyroïdienne

Le BPA semble interférer avec la fonction thyroïdienne. Il a en effet été observé que l'augmentation des taux de BPA urinaires était associée à une diminution des taux de T4 totale. Chez des hommes hypofertiles, il a été démontré que les plus hauts taux urinaires de BPA étaient associés à une baisse de la TSH. Chez des travailleurs exposés à de plus hautes doses de BPA, de plus hautes concentrations urinaires de la substance étaient significativement corrélées à des concentrations augmentées de T3 libre et de T3 totale, mais également à des concentrations diminuées de TSH [174].

Une étude de cohorte, suivant des femmes enceintes et leurs enfants, a pu démontrer que de plus hautes concentrations urinaires en BPA chez la mère étaient associées à des concentrations diminuées de T4 dans le sérum pendant la grossesse (l'association était plus forte lorsque les prélèvements étaient simultanés) [168].

Les effets du BPA sur la fonction thyroïdienne semblent donc être complexes puisque la T3 semble être augmentée, alors que la T4 et la TSH semblent être diminuées. Le BPA et ses dérivés halogénés peuvent avoir des actions agonistes et antagonistes sur le récepteur aux hormones thyroïdiennes, ce qui pourrait peut-être expliquer la complexité des effets observés chez l'Homme [174].

Chez les rongeurs, les études expérimentales reposant sur des approches relativement similaires (exposition développementale, voie orale en prise spontanée...) tendent à montrer un effet du BPA sur la fonction thyroïdienne sur une période correspondant à la maturation finale de l'axe hypothalamo - hypophyso- thyroïdien [112].

II.7.2. Développement

II.7.2.1. Malformations génitales masculines

L'exposition *in utero* au BPA ne semble pas être liée au développement d'une cryptorchidie. Cependant, une diminution de la distance ano-génitale semble être corrélée à une augmentation de l'exposition aux perturbateurs endocriniens anti-androgéniques. Or, on observe chez les garçons de parents exposés professionnellement au BPA, une diminution de la distance ano-génitale. Chez les garçons de mères exposées professionnellement, une corrélation significative existe entre l'exposition au BPA et la diminution de la distance ano-génitale, avant et après la puberté. La relation dose réponse est linéaire. Tous ces résultats indiquent que le BPA aurait une action anti-androgénique *in utero* [174].

Cependant ces études sont réalisées chez des sujets avec une exposition professionnelle, et donc une exposition plutôt importante à la substance. Les résultats doivent être reproduits chez des sujets soumis à une exposition environnementale pour confirmer un quelconque risque dans la population générale [175].

II.7.2.2. Affection du comportement de l'enfant et de son développement neurologique

Plusieurs études récentes ont rapporté des altérations neurocomportementales chez des enfants après exposition au BPA *in utero* ou avant la puberté, suggérant une atteinte du cerveau durant une fenêtre importante du développement.

Une étude a mesuré le taux de BPA total urinaire de femmes enceintes autour de la 16^{ème} et de la 24^{ème} semaine de grossesse, puis à la naissance de l'enfant. Ensuite, lorsque l'enfant atteint ses 2 ans, son comportement est évalué selon l'échelle « Behavioral Assessment System for Children », permettant aux parents d'évaluer les problèmes d'adaptation et de comportement de leur enfant dans les cadres communautaire et familial.

Chez les filles, une corrélation significative entre l'augmentation des concentrations de BPA dans les urines de la mère pendant la grossesse et l'augmentation de comportements hyperactifs ou agressifs a été observée. Cette association était ,particulièrement, forte avec les taux de BPA prélevés à environ 16 semaines de grossesse, suggérant une possible fenêtre d'exposition critique dans le développement du fœtus[174].

Une autre étude trouve une association entre les taux de BPA total urinaire chez la mère à 34 semaines de grossesse et une augmentation des problèmes comportementaux chez les garçons de 3 à 5 ans, avec notamment une grande réactivité émotionnelle, un comportement agressif, et des tendances à être renfermés en société et à avoir des problèmes pour dormir. Chez les filles, les effets montraient au contraire de meilleurs scores notamment en ce qui concerne l'anxiété [174].

II.7.3. Système immunitaire

Pour mesurer l'impact du BPA sur le système immunitaire, les titres d'anticorps anti cytomégalovirus ont été évalués. En effet, de hautes concentrations d'anticorps anti-CMV indiquent une faiblesse du système immunitaire et peuvent être un marqueur précoce d'un trouble immunitaire chez l'Homme.

Des auteurs ont effectué une étude transversale sur des données de la NHANES 2003-2006, et ont trouvé que le titre d'anticorps anti-CMV était corrélé aux concentrations urinaires en BPA. Chez les patients de moins de 18 ans, les concentrations urinaires en BPA étaient associées à une diminution du titre d'anticorps, alors que chez les patients de plus de 18 ans on observait une augmentation de ce titre d'anticorps. Les effets du BPA semblent donc assez flous, même si l'hypothèse d'une exposition chronique au BPA qui affecterait petit à petit le système immunitaire a été avancée [174].

L'effet immuno-modulateur du BPA peut être expliqué par son activité en tant que ligand pour l'ER. Les cellules T CD4 + expriment l'ER α et, dans une moindre mesure, l'ER β . Malgré les études dans différents modèles, de faibles niveaux d'estradiol sont associés au développement des cellules Th1. Pendant ce temps, des niveaux élevés pendant la grossesse, par exemple, promeuvent le développement de Th2. Ces résultats peuvent expliquer les effets immunologiques du BPA une fois que sa fonction est reconnue dans la perturbation de la fonction endocrinienne. La capacité du BPA à se lier au récepteur d'hydrocarbure aryle (AhR) et le récepteur activé par les proliférateurs de peroxyosomes (PPAR), qui sont une famille de récepteurs nucléaires impliqués dans l'inflammation, devrait également être prise en compte[106].

II.7.4. Cancer hormono-dépendant

Le BPA n'est pas classé comme cancérigène, mais il suscite de forts soupçons. Il semblerait que le BPA puisse favoriser l'apparition de cancers hormono-dépendants, comme le cancer du sein ou de la prostate chez le rongeur, en cas d'exposition intra-utérine [176]. L'Académie française de médecine le considère comme étant « cocarcinogène » [177].

L'exposition au BPA semble être liée à une incidence plus élevée de différents types de cancer, à savoir le sein, l'utérus, l'ovaire et la prostate.

Le principal mécanisme indiqué à la suite de ces développements est l'activité œstrogénique du BPA. Les effets et les mécanismes du BPA sur la carcinogenèse humaine et le développement du cancer ne sont pas encore bien illustrés. Malgré la faible affinité pour les ER, la liaison modifie la capacité du même récepteur à recruter des co-activateurs ou co-répresseurs, ceci aurait donc un impact épigénétique. Le BPA peut également se lier aux récepteurs liés aux œstrogènes (ER γ et l'activation de ERK1/2 et ER γ stimulent la prolifération cellulaire dans le cancer du sein après exposition à de faibles doses de BPA [178].

De même que l'œstradiol, le BPA se lie également à la membrane ER et aux récepteurs GPR30 en déclenchant des réponses cellulaires rapides par le biais de voies de signalisation génomique. Des mécanismes œstrogéniques indépendants peuvent également expliquer le caractère cancérigène potentiel du BPA. Les effets épigénétiques tels que la méthylation de l'ADN et la modification des histones sont des régulations épigénétiques induites par le BPA. Le BPA affecte également la stabilité de l'ADN. Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont montré la possibilité de liaison du BPA à l'ADN dans les cellules humaines[106].

II.7.4.1. Effets sur les cellules mammaires

De nombreux travaux, indiquent de manière cohérente, qu'une exposition développementale (foetale ou périnatale) au BPA modifie l'architecture de la glande mammaire à l'âge adulte, chez les rongeurs. Chez le rat et chez différentes souches de souris, de faibles doses de BPA (2,5 et 25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$) administrées *in utero* augmentent la densité, la ramification et le nombre de canaux et d'alvéoles et induisent une hyperplasie des canaux terminaux. Ces travaux indiquent donc qu'il pourrait exister un risque plus élevé de tumeurs mammaires.

Ce processus a été décrit en plusieurs étapes. À court terme, en fin de vie foetale, les premiers effets morphologiques du BPA sur la glande mammaire sont déjà visibles, et ce, même à de faibles doses (0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$). À ce stade, le BPA accélère la maturation du coussin adipeux et retarde la formation de la lumière dans les canaux [179]. Au moment de la puberté, les effets morphologiques apparaissent plus subtils, mais la sensibilité de la glande mammaire à l'œstradiol est nettement [180].

Il est donc suggéré que l'exposition aux hormones ovariennes à partir de la puberté participe au développement des lésions observées plus tard dans les glandes mammaires exposées au BPA pendant la vie foetale. À l'âge adulte, toutes les études rapportent une augmentation des structures terminales des canaux [181,182] pour des doses variables (de 2,5 à 250 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ *in utero*). Une hyperplasie de ces structures est également décrite[183].

En résumé de nombreux travaux démontrent que l'exposition au BPA, durant la vie foetale, pendant l'organogenèse mammaire, peut modifier le développement de cet organe, augmenter sa sensibilité aux œstrogènes, à la puberté et conduire à l'apparition de lésions pré néoplasiques.

II.7.4.2. Effet sur l'endothélium de l'endomètre

L'endomètre est la muqueuse de l'utérus. Ce tissu richement vascularisé recouvre la paroi interne de l'utérus et se développe à chaque cycle au cours de la vie fertile pour éventuellement permettre l'implantation de l'embryon. La croissance de l'endomètre est sous le contrôle des hormones stéroïdes ovariennes ce qui fait de ce tissu une cible potentielle pour les perturbateurs endocriniens.

Deux études de la même équipe se sont intéressées aux effets du BPA sur les cellules endothéliales de l'endomètre humain. Il a ainsi été démontré qu'une exposition aiguë à de fortes doses de BPA (100 μ M) diminue la prolifération et la viabilité de ces cellules en culture [184,185].

Ces deux études suggèrent que le BPA pourrait perturber une fonction majeure pour l'endomètre, l'angiogenèse. Bien que les données produites par cette équipe apparaissent cohérentes, les doses utilisées dépassent de loin les niveaux retrouvés dans le sang de la population générale. Cependant, il est à noter que l'effet inhibiteur de la prolifération a également été obtenu avec des doses plus faibles (10 nM) et que le modèle *in vitro* d'exposition aiguë est difficilement comparable avec une exposition chronique à de faibles doses.

Association avec l'endométriose

L'endométriose est une pathologie fréquemment associée à des défauts de fertilité. Elle est caractérisée par le développement de tissus endométriaux en dehors de la cavité utérine. Ces tissus s'implantent couramment dans la cavité péritonéale, au niveau de l'ovaire.

Deux études présentées dans le chapitre « études épidémiologiques » se sont intéressées à la relation entre endométriose et taux de bisphénols. Une étude réalisée sur une cohorte de 140 patientes japonaises se plaignant de stérilité n'a pas trouvé d'association entre endométriose et le taux urinaire de BPA. Dans cette cohorte, le BPA a été retrouvé dans 93 % des urines testées [186].

L'autre étude, portant sur 69 femmes fertiles, adressées à l'hôpital de Naples (Italie) rapporte une forte corrélation entre le taux de bisphénols A et B dans le sang et le diagnostic d'endométriose. L'étude italienne reste préliminaire au vu de l'effectif restreint, et est actuellement la seule donnée reliant des taux de bisphénols à une pathologie endométriale. Cette étude mériterait d'être reproduite sur une plus large cohorte [187].

II.7.4.3. Cancer de la prostate

De nombreuses études expérimentales chez des rats traités au BPA durant la vie néonatale puis traités ensuite à l'âge adulte par des implants d'œstradiol et de testostérone ont décrit l'apparition de lésions précancéreuses, ou des néoplasies prostatiques intraépithéliales.

L'existence de mutations dans le gène codant pour le récepteur aux androgènes pourrait être un mécanisme de sélection de cellules tumorales prostatiques et constitue un facteur de risque. Dans ce cadre, il est à noter que le BPA pourrait stimuler la progression de tels cancers. En effet, une étude rapporte qu'à de faibles doses (1nM). Le BPA stimule spécifiquement la prolifération de cellules tumorales prostatiques portant la mutation AR- T877A [188].

II.7.5. Reproduction

II.7.5.1. Atteinte de la fertilité chez la femme

Il a été suggéré que la reproduction humaine pourrait être perturbée par des produits chimiques, présents dans l'environnement. On suspecte que le BPA affecterait plusieurs paramètres de la fertilité. Plusieurs études, de cohortes prospectives, se sont intéressées aux couples investis dans un programme de procréation médicalement assistée.

Une augmentation du BPA libre sérique chez des femmes subissant une fécondation *in vitro* aurait tendance à être associée à une diminution du pic d'œstradiol, après stimulation par l'HCG, et à une diminution de la sécrétion d'œstradiol par les follicules matures. Un doublement du taux de BPA libre sérique serait associé à une diminution de 55 % des chances de fécondation, et de 61 % si le partenaire montre également un doublement du taux sérique de BPA libre. Chez les femmes subissant une injection intra cytoplasmique de spermatozoïdes, une augmentation du BPA libre sérique est corrélée à une diminution de la probabilité que l'ovocyte devienne mature [174].

II.7.5.2. Fausses couches

Quelques études ont montré des preuves d'une possible relation entre l'exposition au BPA et les fausses couches à répétition. Dans l'une d'entre elles, les femmes ayant fait des fausses couches à répétition, présentaient des taux sériques de BPA augmentés par rapport à des témoins sains. De plus, 13 caryotypes de ces embryons rejetés ont été analysés, et les résultats montrent que les femmes avec des embryons anormaux avaient tendance à avoir des taux sériques de BPA augmentés [174].

Une étude, chez des femmes mexicaines, a montré une exposition au BPA plus importante chez celles accouchant avant 37 semaines d'aménorrhée (limite de la prématurité) par rapport à celles accouchant après 37 semaines d'aménorrhée. Une autre étude ne trouva, cependant, aucun lien entre l'exposition au BPA et la durée de la grossesse. Certains effets, observés chez les rongeurs, n'ont pas pu être confirmés chez l'Homme, notamment en ce qui concerne le lien entre exposition au BPA et pathologies de l'endomètre [174].

II.7.5.3. Reproduction chez l'homme

L'impact de l'exposition humaine et animale au BPA a été largement étudié, ces données sont abordées dans le quatrième chapitre : impact sur la fertilité masculine.

Le **tableau 09**, ci suivant représente différentes études non exhaustives dont l'objectif est de rechercher tout impact de l'exposition au BPA sur les différents systèmes biologiques (cardiaques, immunitaires, digestifs, endocriniens...).

Tableau 09 : Liste des dernières études d'impact de l'exposition au BPA sur la santé humaine [8]

<i>Pathologies</i>	<i>Type d'étude</i>	<i>N</i>	<i>Population</i>	<i>Concentration moyenne de BPA</i>	<i>Résultats</i>	<i>Ref</i>
Diabète	Transversale	3516	Pré diabétiques (glucose : 100 – 125 mg/dL)	1,93–2,22 ^a	Indépendamment du diabète, les facteurs de risque étaient plus élevés. Les niveaux de BPA urinaire ont été associés à une situation de pré diabète.	[189]
Diabète/Maladies cardiovasculaires/Obésité	Transversale	1455	Adultes 18–74 ans	4,5–4,7 ^a	Corrélation positive entre les niveaux de BPA urinaire et une fréquence plus élevée de maladies cardiovasculaires, de diabète de type 2, mais pas de modifications de l'IMC.	[190]
Diabète type 2	Transversale	3967	Adultes > 20 ans	3,9–4,0 ^a	L'augmentation du diabète de type 2 était, significativement, associée à des taux urinaires plus élevés de BPA.	[191]
Diabète/Obésité	Transversale	296	Âge de la reproduction Femmes de 30–49 ans	1,38 ^c	Les niveaux de BPA urinaire étaient, positivement, corrélés avec l'IMC, le tour de taille et la résistance à l'insuline.	[192]
Diabète type 2	Transversale	3423	Adultes > 40 ans	2,1 ^a	Une faible association a été trouvée entre les niveaux urinaires de BPA et l'augmentation du diabète	[193]
Diabète type 2	Transversale	1210	Adultes > 40 ans	0,8 ^a	Une faible association a été trouvée entre les niveaux urinaires de BPA et l'augmentation du diabète	[194]
Diabète/Maladies cardiovasculaires/Fonction hépatique	Transversale	2948	Adultes de 18–74 ans	1,8–2,5 ^a	Corrélation positive entre les niveaux de BPA urinaire et une fréquence plus élevée de maladies cardiovasculaires, de diabète de type 2 et élévation du taux d'enzymes hépatiques.	[195]
Marqueurs de l'inflammation/Diabète/Obésité	Transversale	76	Hommes de 47–59 ans	1,04 ^d	Les données confirment le rôle du BPA dans l'obésité viscérale liée à l'inflammation chronique de bas grade	[196]
Diabète type 2	Transversale	4389	Adultes > 20 ans	2,0 ^a	Des niveaux plus élevés de BPA urinaire étaient significativement et positivement associés à une augmentation de l'incidence du diabète de type 2.	[197]
Maladies cardiovasculaires	Cas-témoin	591	Sujets avec ou sans coronaropathies	1,3–1,5 ^{b, a}	Par rapport aux témoins, les personnes atteintes de coronaropathies avaient montré des niveaux de BPA, significativement, plus élevé	[198]
Maladies cardiovasculaires	Transversale	1619	Adultes de 40–74 ans avec ou sans coronaropathie	1,2–1,4 ^a	Une incidence plus élevée de coronaropathies pendant 10ans de suivi a été, positivement, associée avec de hauts niveaux urinaires de BPA	[199]
Obésité	Prospective	977	Adultes > 40 ans	0,8–5,0 ^{a, b}	Faible association entre les niveaux de BPA et le surpoids	[200]
Maladies cardiovasculaires	Transversale	745	Adultes > 40 ans	2,3 ^a	Association positive entre la prévalence de la maladie artérielle périphérique et le taux de BPA urinaire	[201]
Maladies cardiovasculaires	Transversale	521	Adultes > 60 ans	1,2 ^c	Association significative entre la diminution de la fréquence cardiaque et les niveaux urinaires de BPA	[202]

<i>Pathologies</i>	<i>Type d'étude</i>	<i>N</i>	<i>Population</i>	<i>Concentration moyenne de BPA</i>	<i>Résultats</i>	<i>Ref</i>
Obésité	Transversale	2747	Adultes de 18–74 ans	2,1 ^c	Taux de BPA urinaire, significativement, associé à un IMC et un tour de taille plus élevés	[203]
Obésité/Hormones	Prospective	890	Adultes > 70 ans	2.1–3,9 ^d	Aucune relation significative entre les niveaux de BPA et l'IMC	[204]
Obésité/Diabète type 2	Transversale	3390	Adultes > 40 ans	0.8 ^a	Le taux de BPA urinaire plus élevé était, significativement, associé à un IMC plus élevé, à l'obésité et à la résistance à l'insuline	[205]
Obésité	Transversale	223	Adultes > 18 ans	2,85 ^c	Faible association entre les niveaux urinaires de BPA et l'IMC	[206]
Obésité/ Hormones sexuelles	Transversale	282	Femmes non obèses pré-ménopausées de 20-55 ans	2.3 ^a	Association positive entre le poids, l'IMC, la masse grasse et la leptine sérique avec les niveaux urinaires de BPA	[207]
Obésité	Transversale	3967	Adultes > 20 ans	3.9– 4,0 ^a	Taux de BPA urinaire plus élevé était significativement associé à un IMC et un tour de taille plus élevés.	[208]
Obésité	Transversale	85	Femmes de 16-58 ans	1.5–1,7 ^a	Corrélation positive entre l'IMC et le BPA, le cholestérol, LDL ; tandis qu'une corrélation négative entre l'IMC et l'adiponectine et l' HDL a été notée.	[209]
Obésité	Transversale	82	Hommes et femmes avec hypofertilité	1.3 ^a	Aucune association entre les niveaux de BPA et l'IMC	[210]
Obésité/Hormones sexuelles	Cas/Témoin	73	Femmes avec et sans syndrome des ovaires multi kystiques obèses et non obèses	0.7–1,2 ^d	Association positive entre l'augmentation du BPA sérique, l'IMC et la concentration d'hormones sexuelles	[211]
Diabète/Hormones sexuelles	Transversale	171	Femmes avec et sans syndrome des ovaires multi kystiques, obèses et non obèses	0.7–1,1 ^d	Association positive entre l'augmentation du BPA sérique et les concentrations d'hormones sexuelles. Le BPA était positivement corrélé à la résistance à l'insuline.	[212]
Diabète type 2 / Inflammation	Transversale	60	Femmes maigres et obèses avec et sans syndrome des ovaires multi kystiques, de 23 à 33 ans	0.1-0.7 ^d	Les femmes avec des niveaux plus élevés de BPA sérique avaient une sévère résistance à l'insuline, ainsi q' une augmentation des marqueurs de l'inflammation chronique. Les femmes atteintes de syndrome des ovaires multi kystiques avaient un niveau plus élevé de BPA sérique par rapport aux témoins.	[213]

N : échantillonnage ; a : µg/L de BPA urinaire non ajusté ; b : médiane ; c : µg/g, BPA urinaire ajusté pour la créatinine ; d : µg/L, BPA sérique. LDL : lipoprotéine de basse densité ; HDL : lipoprotéine haute densité.

II.8. Détection et dosage toxicologique du BPA

II.8.1. Études de bio surveillance

Les études de bio surveillance permettent la détermination des niveaux circulants internes et excrétés des concentrations d'un produit chimique d'intérêt, qui compte pour les expositions de toutes les sources possibles, plutôt que des expositions suspectes de sources spécifiques. Elles prennent en compte la cinétique, les propriétés bioaccumulables et le métabolisme du produit chimique cible pour déterminer quel tissu (matrice biologique) devrait être examiné.

Aux États-Unis, le Centre pour le Contrôle et la Prévention des catastrophes (CDC) est la principale source d'information sur l'exposition humaine à de multitudes contaminants de l'environnement [120,121].

A- Données urinaires

Depuis une dizaine d'années, de nombreuses études de bio surveillance ont évalué l'exposition de la population humaine à travers la quantification du BPA urinaire. Les résultats des études, les plus représentatives, sont présentés dans le **Tableau 10**. Dans la plupart des études, les concentrations de BPA total étaient comprises entre 0,1 et 2 µg/L et le plus souvent le BPA non conjugué était indétectable, excepté dans une étude réalisée sur des nouveau-nés prématurés, dans laquelle les auteurs ont rapporté une concentration moyenne de BPA libre de 1,8 µg/L [214].

B- Données plasmatiques

Les concentrations plasmatiques en BPA de la population générale ont une distribution des valeurs beaucoup plus large que les données urinaires, comme le montrent les résultats des études les plus représentatives.

Étant donné que les concentrations plasmatiques de BPA retrouvées sont souvent proches des limites de quantification des méthodes analytiques (de l'ordre de 0,3 à 1 µg/L), les données plasmatiques doivent être interprétées avec précaution. Ces données plasmatiques sont très supérieures, à celles prédites, à partir de la clairance du BPA, estimée chez l'Homme et du taux d'entrée du BPA, estimé à partir des données urinaires.

II.8. 2. Méthodes de dosage

De multiples techniques ont été utilisées pour mesurer le BPA total, non conjugué et conjugué dans des échantillons de sang, d'urine et de tissus humains. La chromatographie en phase gazeuse et liquide est généralement utilisée avec diverses méthodes de détection, notamment la spectrométrie de masse et la spectrométrie de masse en tandem (**tableau 10**).

Bon nombre de méthodes ont mesuré le BPA en utilisant l'extraction en phase solide puis la LC-MS/MS comme technique de dosage. Cette dernière est considérée comme la référence pour les études de bio surveillance urinaire en raison de son haut niveau de précision et capacité d'identifier les structures chimiques. Cependant, cette méthode est limitée par son coût élevé par échantillon, ce qui le rend peu pratique pour de nombreuses études [215].

Le test ELISA (enzyme-linked immuno sorbent assay), tout comme la RIA (Radio Immuno Assay) a également été utilisé dans plusieurs études sur les fluides et les tissus humains, car il est pratique, peu coûteux et utile pour le dépistage d'un grand nombre d'échantillons. Cependant, leur utilisation pour mesurer les concentrations de BPA dans des échantillons humains a été spécifiquement contestée parce que cette méthode est considérée comme moins spécifique que les méthodes employant la chimie analytique [216,217]. En d'autres termes, on craint que les tests ELISA détectent des substances autres que le BPA et ses conjugués, notamment d'autres bisphénols [218].

Néanmoins, il convient de reconnaître que cette méthode est beaucoup plus abordable que les méthodes de chimie analytique, et surtout elle a été utilisée avec succès pour mesurer le BPA dans des échantillons dans une gamme de doses comparables et dans un pourcentage similaire d'échantillons [123].

En plus des méthodes utilisées pour mesurer le BPA dans les tissus et les liquides humains, l'équipement et les contenants utilisés pour recueillir et stocker les échantillons sont essentiels à l'évaluation précise des concentrations de BPA. Il a été suggéré que les faibles niveaux de BPA non conjugué détectés dans les tissus et les fluides corporels, étaient dus à une contamination par des matériaux de collection ou à une dé conjugaison enzymatique du BPA pendant le stockage [219].

Les solvants organiques et l'eau utilisés en laboratoire peuvent dégager du BPA à partir de matériel de laboratoire en plastique, ce qui peut entraîner une contamination [220].

Tableau 10 : Revue de récentes études de bio surveillance de l'exposition au BPA, chez la population générale.

Population	Échantillonnage	Méthode analytique	LOD (µg/L)	Taux de BPA total (µg/L)	Réf.
<i>Données urinaires</i>					
Population âgée > 6 ans	n= 2517	HPLC-MS/MS	0,4	2.6 [0.4-149]	[215]
Étudiants américains	n= 77	SPE-HPLC-MS/MS	0,4	1,7	[221]
Femmes allemandes enceintes uniques	n= 100	GC-MS/MS	0,26	1,2	[222]
<i>Données plasmatiques</i>					
Adultes japonais	n= 19	ELISA	0,3	0,71	[211]
Femmes allemandes enceintes	n= 37	GC-MS	0,3	4,4	[223]
Patients d'un hôpital	n= 207	RIA	0,08	[0.08-2]	[224]

II.9. Alternatives/analogues du BPA

II.9.1. Problématique des additifs chimiques dans le plastique [225].

Les matières plastiques sont des polymères synthétiques constitués de longues chaînes d'unités moléculaires qui se répètent. Ces unités portent le nom de monomères, et forment les motifs structuraux des polymères. L'industrie pétrochimique produit des monomères tels que le chlorure de vinyle, le styrène et l'acrylonitrile en procédant à la distillation du pétrole brut dans les raffineries.

Ces matières brutes sont ensuite envoyées aux producteurs de résines qui les utilisent pour polymériser les monomères, en vue de fabriquer des produits finis à partir de polymères comme le polychlorure de vinyle (PVC), le polystyrène (PS) et l'acrylonitrile butadiène styrène (ABS). Après avoir ajouté des additifs tels que les plastifiants et les produits ignifuges, les résines sont ensuite acheminées aux fabricants de matières plastiques sous forme de poudre, de liquides ou granules où elles sont transformées en une foule de produits de plastique. La transformation des matières plastiques se divise en deux catégories principales ; les matières thermoplastiques sont des polymères qui, grâce à l'application de la chaleur et de la pression, peuvent être ramollis et remodelés à maintes reprises ; les matières thermodurcissables subissent une réaction chimique qui donne lieu à un produit permanent qui ne peut être ramolli ni remodelé.

Le cycle de vie d'un matériau plastique passe principalement par les trois phases présentées sur la **figure 25**. Malgré des avancées mondiales importantes dans la gestion, le traitement et le recyclage au cours des trois dernières décennies, la plus grande partie des déchets plastiques finit peut-être encore dans des décharges ou est brûlée à l'air libre, émettant du monoxyde de

carbone (CO) et du dioxyde de carbone (CO₂). Au mieux, ils pourraient se retrouver dans des remblais aménagés.

L'Europe, qui possède sans doute avec le Japon les systèmes de récupération des déchets et des ressources les plus avancés sur le plan technique, et les plus respectueux de l'environnement, n'assurent qu'environ 50 % des déchets plastiques sont toujours dirigés vers une élimination contrôlée des décharges.

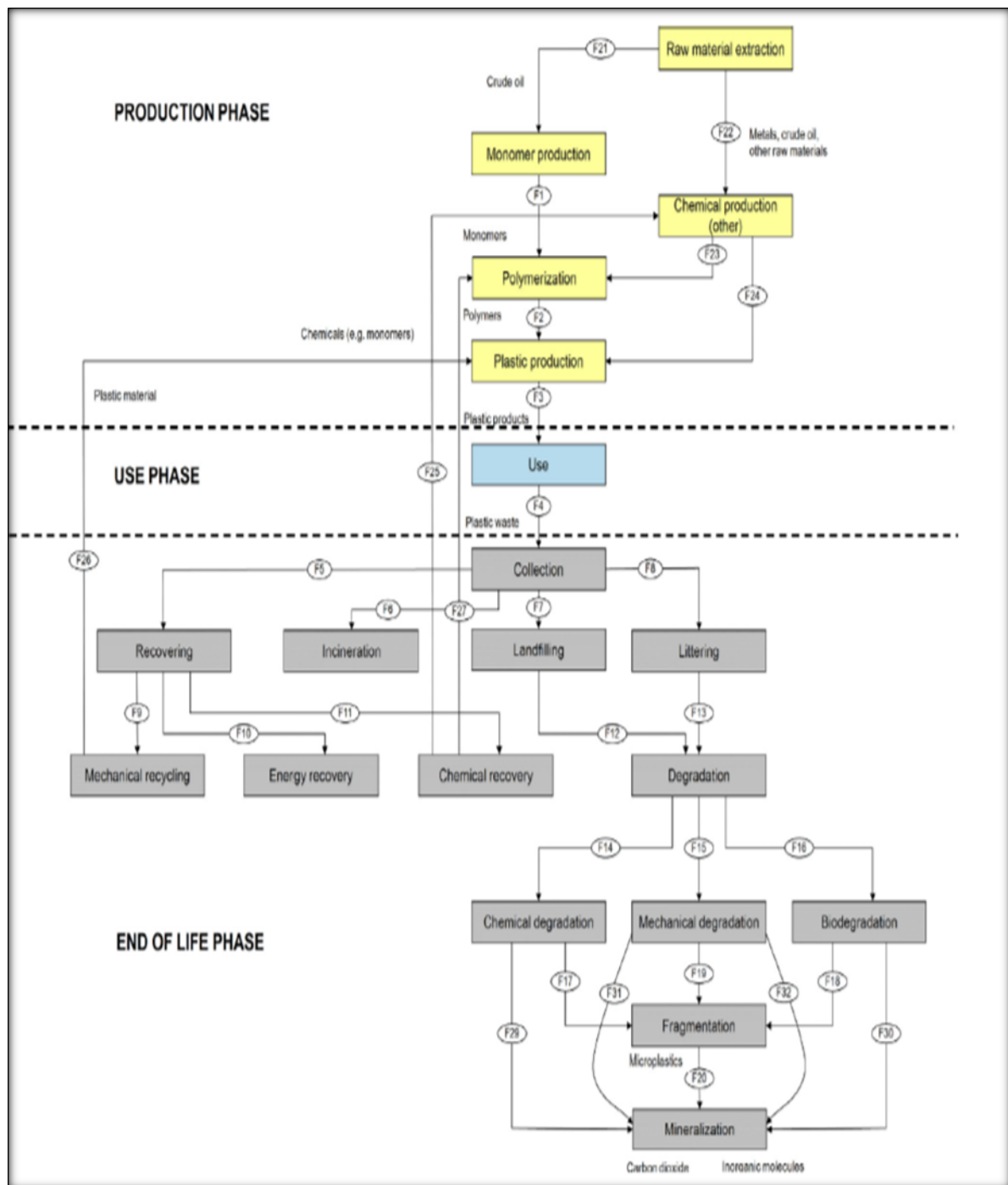


Figure 25 : Cycle de vie du plastique [225].

Les alternatives de valorisation des déchets plastiques sont le recyclage mécanique (recyclage primaire et secondaire substituant des matériaux vierges), la récupération chimique (recyclage tertiaire) ou la récupération énergétique (recyclage quaternaire).

Pour la grande majorité des fractions de déchets plastiques (par exemple, la plupart des emballages vieillissants, le plastique de l'électronique, le plastique et les polymères des secteurs des transports et de la construction), un tri intensif est nécessaire afin d'obtenir un recyclât de haute qualité qui peut être utilisé pour remplacer des matériaux vierges. Dans la plupart des cas, les plastiques sont appliqués au recyclage secondaire, dans lequel les plastiques utilisés sont cascades dans des applications de matériaux différents de l'original, et souvent de spécifications de matériaux moins exigeantes (par exemple, des bouteilles en Polyéthylène PET en toison).

Les déchets plastiques destinés au recyclage pourraient être transportés sur de longues distances, principalement exportés des pays développés vers les pays en développement, en particulier vers l'Asie et l'Afrique. Il a été démontré que 46 % en poids des plastiques collectés pour le recyclage en Europe ont été exportés de manière régulière, directement ou indirectement en Chine.

En ce qui concerne, la récupération chimique (recyclage tertiaire), qui est fortement utilisée comme recyclage des matériaux plastique, implique que des produits chimiques, comme par exemple les monomères, soient récupérés et/ou convertis de la matière plastique. Cela peut potentiellement se faire par dépolymérisation catalytique ou par dégradation thermique contrôlée, telle que la thermolyse. La pyrolyse est également considérée comme un traitement durable et efficace qui peut produire une gamme d'hydrocarbures utiles, potentiellement utilisés comme matière première chimique ou comme énergie, minimisant ainsi la dépendance vis-à-vis des combustibles fossiles non renouvelables.

Tous les additifs retrouvés dans le plastique peuvent être principalement répartis dans les quatre catégories suivantes [226] (**Tableau 11**).

- Additifs fonctionnels (stabilisants, agents antistatiques, retardateurs de flamme, plastifiants, lubrifiants, agents de glissement, agents de durcissement, agents moussants, biocides... etc.) ;
- Colorants (pigments, azocolorants solubles... etc) ;
- Charges (mica, talc, kaolin, argile, carbonate de calcium, sulfure de baryum...etc) ;
- Renforts (par exemple fibres de verre, fibres de carbone...etc).

Tableau 11 : Description des additifs majoritaires dans les matériaux plastiques [226]

<i>Type d'additif</i>	<i>Pourcentage de présence dans le matériau (% poids/poids)</i>	<i>Molécules</i>
Plastifiant fonctionnel	10-70	Paraffines chlorées à petite, moyenne et longue chaîne : diisooheptylphthalate (DIHP) ; benzylbutylphthalate (BBP) ; bis2-ethylhexylphthalate (DEHP) ; bis2-methoxyethyl phthalate (DMEP) ; dibutylphthalate (DBP), dipentyl phthalate (DPP) ; diethyl phthalate (DEP) ; di octyladipate (DOA) ; dicyclohexyl phthalate (DCHP) ; butylbenzyl phthalate (BBP) ; diheptyl adipate (DHA) ; heptyl adipate (HAD) ; heptyl octyl adipate (HOA)
Retardateurs de flamme	3-25 0,7 -3	Retardateurs de flamme bromés avec antimoine ex polybromo diphenyle éthers PBDES ; tetrabromobisphenol TBBPA ; Retardateurs de flamme phosphorés : tri2-chloroethyl phosphate (TCEP) ; tri 2 - cholrisopropyl phosphate (TCPP) ; hexabromocyclohexane (HBCDD)
Stabilisateurs, antioxydants et stabilisateurs UV	0,05-3	BPA ; analogues du bisphénol : Cvanox 2246 et 425, octylphenol ; butyl hydroxytoluene (BHT) ; 2 t butyl -4 - hydroxyanisole (BHA) ; tris-nonyl -phenyl-phosphate (TNPP) ; tris -2,4 - di-tert-butylphenyl phosphate (Irgafos 168)
Stabilisateurs thermiques	0,5-3	Dérivés du Cadmium ; polyphénols (sels de Barium et Calcium)
Biocides	0,001-1	Dérivés de l'arsenic, dérivés organiques de l'étain : triclosan
Agents soufflants	1-10	Azodicarbonamide, benzène disulphonyl hydraizde (BSH), pentane, CO ₂
Agents de durcissements	0,1-2	Hydrazine; aniline ; méthylene dianiline (MOCA) ; 4,4'-diamino diphenyl methane (MDA)

Malgré l'utilité de ces additifs dans la fonctionnalité des produits polymères, leur potentiel de contamination du sol, de l'air, de l'eau et des aliments est largement documenté dans la littérature. Ces additifs peuvent potentiellement migrer et conduire de manière indésirable à une exposition humaine comme par exemple, les matériaux venant au contact des aliments, tels que les emballages. Ils peuvent également être libérés des plastiques au cours des différents processus de recyclage et de récupération et des produits fabriqués à partir de recyclât.

On soupçonne l'action œstrogénique du di - (2 - éthylhexyl) phtalate (DEHP), qui est utilisé pour plastifier le PVC, de jouer un rôle dans le développement du cancer des testicules et du cancer du sein chez l'homme, ainsi que dans les issues défavorables de la grossesse chez les personnes travaillant dans la fabrication du PVC[227]. Une étude auprès des travailleurs dans le domaine du PVC à Taiwan a révélé que chez les hommes, l'effet indésirable se traduisait par de plus grandes concentrations de DEHP dans la qualité de leur sperme [228].

Différents composés métalliques sont utilisés comme stabilisants et colorants dans les polymères, notamment ; les composés inorganiques du plomb, le cadmium, les composés organiques de l'étain, le baryum, le calcium, les carboxylates de zinc et les composés d'antimoine. Le CIRC a classé les composés de plomb dont on se sert pour stabiliser le PVC parmi les substances possiblement cancérigènes pour les humains (groupe 2 B)[229].

Lors de la production de matières plastiques, on se sert principalement des composés organiques halogénés et organophosphorés comme produits ignifuges 35. Il a été démontré que les polybromobiphényles (PBB) et les éthers diphényliques polybromés (EDP) ont une forte action œstrogénique et dans certains cas, le CIRC les considère comme étant potentiellement cancérigènes pour les humains (groupe 2 B).

Le phosphate de tris (2 - chloroéthyl) (PTCE), un composé organophosphoré, présente une « toxicité pour la reproduction ». Il a été établi que le trioxyde d'antimoine, employé comme produit ignifuge, peut induire un cancer des voies respiratoires chez les rats femelles et avoir des effets néfastes sur la fonction reproductrice chez les humains. Le CIRC le considère comme étant potentiellement cancérigène pour les humains (groupe 2 B)[227].

De nombreux pays (notamment l'Union Européenne et plusieurs États Américains) ont interdit ou restreint l'utilisation ou la fabrication d'un certain nombre de produits ignifuges contenant des EDP ainsi que du PTCE. Certains fabricants ont délibérément cessé de produire ces substances ou se sont engagés à les éliminer progressivement. Malgré ces mesures, il semble que l'utilisation de ces produits chimiques continue d'être très répandue [227].

Outre les nombreux composés cancérigènes ou ceux qui se retrouvent principalement dans la production de matières plastiques, il en existe plusieurs autres qui sont également employées dans ce domaine et dans la plupart des emplois du secteur manufacturier. On retrouve les Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), dont les émissions proviennent de la combustion de combustibles et des autres processus de décomposition.

Les HAP ont été reconnus comme étant des cancérigènes mammaires lors d'essais effectués sur des animaux. Le CIRC a classé le benzo [a] pyrène, l'un des HAP qui est produit lorsque la combustion n'est pas complète, parmi les substances cancérigènes pour les humains (groupe 1)[227].

Le benzène, le méthyléthylcétone et le toluène sont employés dans la peinture, le collage et la décoration de produits de plastique. Il a été démontré que ces substances de même que plusieurs autres solvants organiques peuvent induire des tumeurs des glandes mammaires chez les animaux [227]. Plusieurs de ces solvants sont considérés comme étant des PE [230].

Les travailleurs du secteur des matières plastiques sont rarement exposés à une seule de ces substances à la fois. Ils se retrouvent souvent en présence de mélanges complexes de produits qui sont utilisés et fabriqués durant la production. Les travailleurs sont également exposés à une multitude de produits de combustion qui sont rejetés lorsque les matières plastiques sont surchauffées.

D'autres expositions surviennent également à l'extérieur (à la maison, en plein air... etc.) et viennent s'ajouter à celles déjà subies au travail. De tels mélanges peuvent avoir des effets additifs et synergiques dans lesquels l'effet combiné est plus grand que l'effet individuel de chacune des substances chimiques. Certaines études qui ont analysé le lien entre les PE et le cancer du sein ne se sont pas avérées concluantes lorsqu'il a été question de mesurer l'exposition à une seule substance chimique à la fois, mais ont eu des effets néfastes lorsque les essais étaient menés auprès de personnes étant exposées à des mélanges complexes [227].

De ce fait, un recyclage rationnel doit être effectué de manière à éviter l'émission de substances extrêmement préoccupantes et la contamination des produits recyclés, en améliorant toujours la protection de l'environnement et de la santé humaine.

Le BPA peut potentiellement migrer des résines plastiques qui sont couramment utilisées en milieu industriel, tout comme les doublures et les bouteilles en polycarbonate (PC) dans les aliments, agissant comme un perturbateur endocrinien. Plusieurs études ont étudié la libération de BPA des revêtements PVC, de boîtes et de bouteilles en PC[225].

Au vu de toutes ces données sur l'effet néfaste qu'on attribue aux additifs du plastique, l'intérêt des instances réglementaires concernées se sont penché sur la question des solutions alternatives et plus particulièrement aux alternatives du BPA dans les différents matériaux le contenant.

En Europe, c'est la France qui lance le débat à travers l'ANSES, qui dans ce cadre et parallèlement à la poursuite de ses travaux d'évaluation des risques du BPA, a lancé un appel à contributions en septembre 2011, afin de recueillir toute donnée scientifique concernant notamment les produits de substitution disponibles du BPA, notamment les données relatives à leur innocuité et leur efficacité. Suite aux réponses obtenues, l'Agence a publié en juin 2012 une note relative aux résultats qui décrivent 73 alternatives potentielles au BPA dont font partie les analogues du BPA (**tableau 12**).

Tableau 12 : Liste des alternatives au BPA[231].

<i>Alternatives</i>	<i>Usage</i>
Polyphényl sulfone	Biberons et accessoires pour biberons
Polyéthylsulfone	Biberons, vaisselles pour enfants
Polyamides (PA)	PA-6 : biberons, bouteilles, emballages alimentaires PA-11 : bouteilles et contenants alimentaires PA-12 : biberons
Polyéthylène (PE)	PE-hd : bouteilles de lait et jus réutilisables
Polypropylène (PP)	Biberons, vaisselles pour enfants, articles de puériculture, bouteilles d'eau réutilisables, plateau-repas dans les cantines.
Polyéthylène téréphtalate	Bouteilles et contenants alimentaires
Matériaux à base d'isosorbide	Polyesters d'isosorbide : contenants micro-ondables, bonbonnes à eau Polycarbonate à base d'isosorbide : bouteilles de sport, corps des mixers et blender
Analogues du BPA	BPS, BPF, BPAF ... (tickets de caisse, contenants alimentaires...)
Poly (acide lactique)	Emballage alimentaire
Matériaux à base de mélamine	Vaisselle, ustensile de cuisine, plateau - repas des cantines
Acrylonitrile-butadiène-styrène	Vaisselle, bouilloires électriques
Verre	Biberons, bouteilles réutilisables, gourdes

II.9.2. Analogues du BPA

Dans les pays développés, les fortes associations retrouvées dans les études expérimentales et épidémiologiques, entre les taux de BPA et l'apparition de pathologies diverses, ont incité la publication d'une réglementation stricte sur l'application de BPA dans les biberons et les gobelets, par des organisations et gouvernements d'Amérique du Nord et de l'Union européenne depuis 2010. Par conséquent, plusieurs fabricants mondiaux ont éliminé le BPA et ont commencé à développer diverses alternatives sans BPA, notamment le bisphénol S (bis-(4-hydroxyphényl) sulfone ; BPS), le bisphénol F (bis(4-hydroxyphényl) méthane ; BPF), le bisphénol AP (4,4'-(1-phényléthylidène) bisphénol ; BPAP) et le bisphénol AF (1,3-trifluoro-2,2-bis-(4-hydroxyphényl) propane ; BPAF) ... etc.

Les analogues bisphénoliques mentionnés ci-dessus partagent une structure commune de deux groupes hydroxyphényle comme le BPA (**figure 26**). Ces BP ont également une large application dans la fabrication de plastiques en polycarbonate, résines époxy et produits en papier (par exemple, les tickets de caisse).

Cependant, de récentes études *in vitro* ont fourni la preuve d'activités œstrogéniques similaires ou même plus fortes pour ces alternatives par rapport à celle du BPA [232].

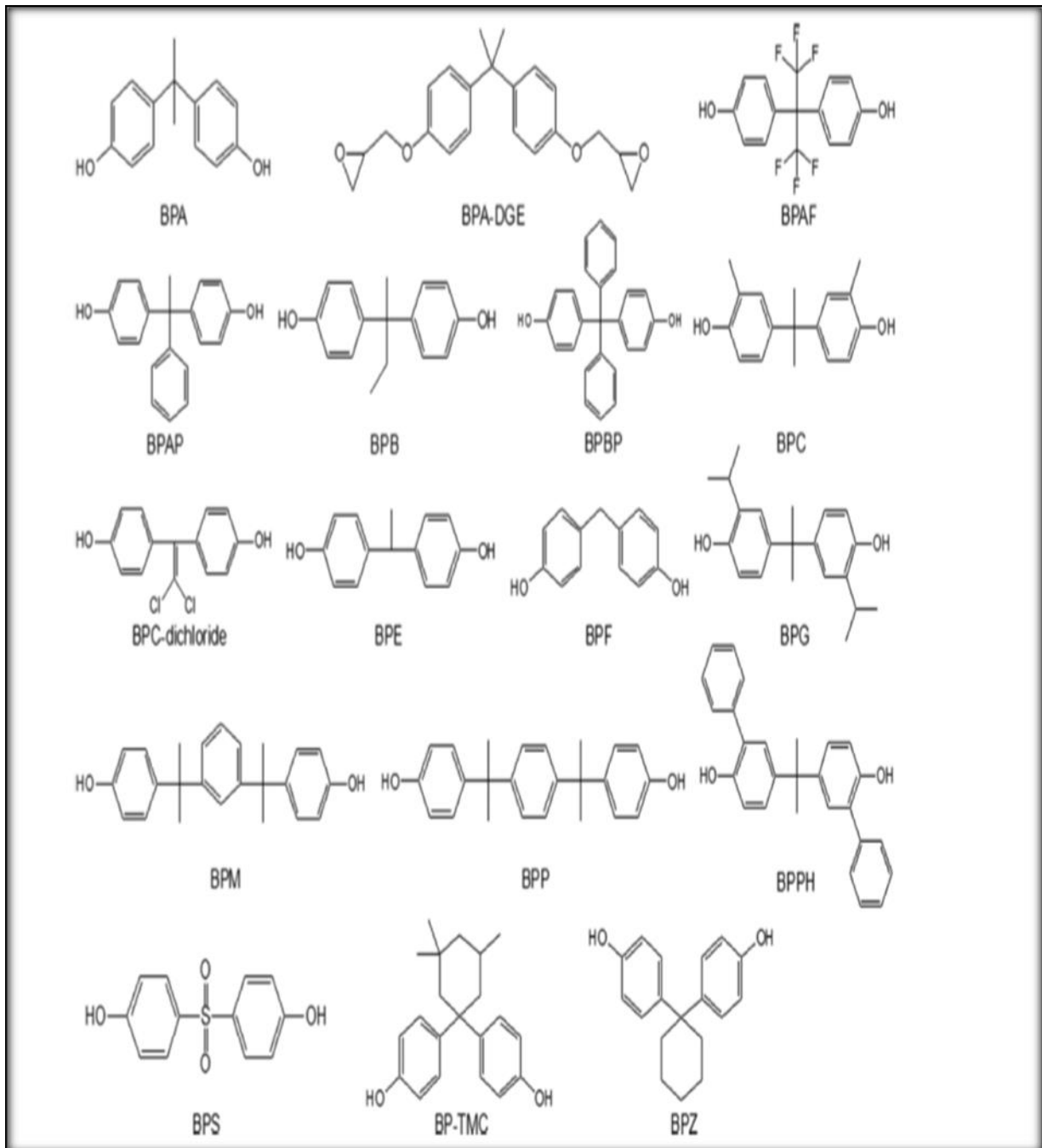


Figure 26 : Structure chimique de 16 analogues du BPA[233].

Il y a un manque général de données de production ou d'utilisation pour tous les analogues du BPA, mais des études ont suggéré que la production et l'application de certains analogues du bisphénol sont globalement en augmentation. La présence d'analogues de bisphénol dans l'environnement, les aliments ou les contenants alimentaires et dans les produits de consommation a été documentée.

Les études disponibles, bien qu'en nombre limité, ont signalé une variété d'effets toxiques de ces substances. Cependant, par rapport à de nombreuses études sur le BPA, les enquêtes sur d'autres analogues du bisphénol sont encore limitées [233].

II.9.2.1. Usage et sources d'exposition aux analogues du BPA

Un total de 16 analogues du bisphénol A a été documenté pour des applications industrielles. Ainsi ; le BPF, le BPS et le BPAF sont parmi les principaux substituts du BPA dans la fabrication de plastiques polycarbonate et résines époxy.

Le BPF a une large gamme d'applications. Il est présent notamment dans les laques, les vernis, les revêtements et adhésifs et les conduits d'eau, ainsi que dans les mastics dentaires, les dispositifs prothétiques, les substituts de tissus et les revêtements pour aliments.

Le BPS est couramment utilisé dans les colles époxy, dans les revêtements et papiers pour reçus thermiques, ainsi qu'en poly sulfonates (éther cétone éther sulfone) et comme additif dans les colorants et les agents de bronzage.

Le BPAF est utilisé comme agent de réticulation dans les fluoroélastomères, dans l'électronique et les fibres optiques, et en tant que monomère de haute performance pour les polyamides et les polyesters. Le BPAF est également utilisé dans des applications de polymères spéciaux, notamment les fibres optiques et guides d'ondes en plastique [233].

II.9.2.2. Contamination environnementale et humaine aux analogues du BPA

Le BPS et le BPF ont été détectés dans la poussière intérieure, dans l'eau de surface, dans les sédiments et dans l'urine humaine à des concentrations plus faibles et à des fréquences comparables par rapport à celles de BPA. Par exemple, les concentrations géométriques moyennes de BPS, BPF et BPA quantifiées dans la poussière intérieure (n = 156) dans les pays d'Amérique et d'Asie étaient de 0,34, 0,054 et 1,33 µg/g, respectivement.

Vingt-trois échantillons d'urine (n = 94) chez les résidents vivant à proximité l'usine de fabrication contenaient divers BP avec des moyennes de 0,023 ; 0,22 ; 0,39 et 0,017 ng/mL pour le BPS, BPF, BPA et BPAF, respectivement. Cependant, les risques d'exposition interne des alternatives au BPA dans la population générale restent mal compris [232].

Étant donné que les bisphénols ont tendance à s'accumuler dans les organismes aquatiques et à la bioamplification qui en résulte tout le long de la chaîne alimentaire, la pollution des eaux de surface par les BP a attiré l'attention de beaucoup de chercheurs. L'analyse des données des échantillons d'eau de surface a montré des concentrations de BPA de 96 ng/L en Chine[171].

De plus, des échantillons de sédiments prélevés en Corée, au Japon et aux États-Unis ont montré des concentrations moyennes de 1,17 ng/g pour le BPA (0 -13,370 ng/g), 12,37 ng/g pour le BPS (0 -19,70 ng/g) 0,05 ng/g pour le BPAF (0 - 4,13 ng/g) et 2,10 ng/g pour le groupe chimique BP total (0 - 25,30 ng/g)[171].

Les études récentes ont commencé à évaluer les concentrations urinaires des analogues du bisphénol A, mais les données disponibles restent très limitées.

Le BPS a été détecté dans des échantillons d'urine d'enfants indiens obèses et non obèses ($0,05 \pm 0,05$ et $0,61 \pm 2,34$ µg/L, respectivement), ces taux sont beaucoup plus faibles que les concentrations de BPA ($6,84 \pm 6,39$ et $8,5 \pm 8,05$ µg/L, respectivement). Cependant, les concentrations de BPS (médiane 4,92 µg/L) ont dépassé ceux du BPA (médiane 2,01 µg/L) et du BPF (médiane 2,16 µg/L), et est devenu l'analogue le plus dominant dans les urines lors d'une étude menée à Jeddah, en Arabie saoudite[234].

Comme le BPS est relativement plus stable à la chaleur et à la lumière que le BPA en raison de sa rigidité, les auteurs soupçonnent que le BPS est plus largement utilisé que le BPA dans les pays tropicaux [234].

II.9.2.3. Toxicité des analogues du BPA

Les quelques études disponibles ont signalé divers effets toxiques des analogues du BPA, notamment les perturbations endocriniennes, la cytotoxicité, la génotoxicité et la reproduction

Les récentes études avaient conclu que le BPF et le BPS avaient un potentiel pour les œstrogènes, les anti-œstrogènes, les androgènes et les activités anti androgènes. Le BPS a également des potentiels d'activité similaires à celle de l'estradiol dans les voies à médiation membranaire, qui sont primordiales pour les actions cellulaires telles que la prolifération, la différenciation, et l'apoptose[233].

En plus, le BPF, le BPS, le BPAF, le BPB et le BPC présentent de forts potentiels d'impact sur les œstrogènes[231].

Tant dans le modèle *in vitro* que dans le modèle du poisson-zèbre, il a récemment été démontré que les alternatives BPB, BPE, BPF et BPS avaient une activité œstrogénique, et plus précisément par la liaison et l'activation du récepteur des œstrogènes[235].

Une étude *in vitro* réalisée sur un modèle mixte rat/souris/homme a montré que le BPF et le BPS possédaient également des propriétés anti-androgènes semblables à celles du BPA[236].

L'affinité d'un bisphénol pour un certain récepteur peut varier et donc être spécifique au composé. Par exemple, le BPS a ainsi une activité œstrogénique et anti-androgénique plus faible que le BPA, mais il exerce néanmoins une influence plus forte sur les niveaux de progestatifs que le BPA[237]. En outre, le BPS a montré un effet sur des cellules hypophysaires en culture, et ce, à des concentrations très faibles[238].

Le BPB a une activité œstrogénique encore plus élevée que celle du BPA. Ce composé possède en outre des propriétés anti androgéniques. Il a été constaté dans plusieurs études *in vitro* que l'activité œstrogène du BPB était toujours plus élevée après une incubation avec des fractions hépatiques humaines. Ceci peut signifier que le BPB est transformé en des métabolites biologiquement plus actifs [239].

Lors de l'identification des dangers, il convient de garder à l'esprit que l'homme est exposé à des mélanges de perturbateurs endocriniens différents et qu'ensemble, ils peuvent avoir un effet additif (ou même synergétique). Le remplacement du BPA par des composés ayant une forte similarité structurelle, qui peuvent donc exercer des effets potentiellement semblables, devrait alors être effectué avec la prudence nécessaire [231].

CHAPITRE III : FERTILITÉ MASCULINE

III.1. Définitions

III.1.1. Fertilité

La fertilité est définie comme la capacité qu'a tout individu à faire un enfant [240]. Autrement dit, c'est la possibilité pour un couple d'obtenir une grossesse après un an de rapports sexuels complets, réguliers et sans contraception. Cette aptitude est liée aux spermatozoïdes, à leur nombre et à leur vitalité, à l'ovule et à leur rencontre. Elle varie d'un individu à l'autre et dans le temps au cours de la vie.

L'homme est fertile à partir de la puberté et sa fertilité ne diminue qu'après 60 ans. En revanche la femme n'est fertile que de la puberté, vers 12 ans, à la ménopause, vers 51 ans voir même plus tôt, car elle commence à diminuer à partir de 36 ans [241]. La fertilité masculine suppose qu'un homme soit capable à la fois de produire des spermatozoïdes suffisants et de qualité et d'avoir une vie sexuelle normale [242].

III.2.1. Infertilité

L'infertilité est définie par l'incapacité pour un couple d'obtenir une grossesse après 24 mois de rapports normaux réguliers et non protégés. On distingue deux types :

- **L'infertilité primaire** : si l'homme n'a jamais obtenu de grossesse.
- **L'infertilité secondaire** : si l'homme a déjà obtenu une grossesse sans recours à une quelconque aide médicale (quelle que soit la partenaire ; actuelle ou antérieure) [240].

III.2. Epidémiologie [240]

En Algérie, en 2016, la SAFEC estime que le taux de l'infertilité chez les couples algériens est passé de 15 à 20 % au cours des dernières années. Sur 100 couples, 35 n'arriveraient pas à concevoir d'enfants naturellement durant les deux premières années de vie commune, régulière et sans contraception[10].

Les études antérieures ont montré que l'infertilité et la procréation sont renvoyées souvent à la responsabilité de la femme. Elle est considérée comme un support biologique de la lignée. Si elle est stérile, elle sera frappée d'invalidité sociale, car elle n'a pas rempli sa fonction pour laquelle elle avait été demandée en mariage.

La stigmatisation principalement à l'égard de la femme stérile est extrêmement fréquente au sein de l'institution familiale algérienne qui intègre des inégalités et des différences selon le sexe et l'âge au profit des hommes. L'infertilité et la procréation sont donc articulées autour de la question centrale des rapports sociaux des sexes.

Si dans le passé, les problèmes d'infertilité dans le couple concernaient beaucoup plus les femmes, aujourd'hui les hommes sont désormais les plus touchés. Le genre de l'infertilité s'est donc inversé. Les médecins gynécologues, urologues et biologistes avancent qu'actuellement le taux des hommes présentant des anomalies de leurs spermogrammes est en augmentation. Selon eux, il est nécessaire de consulter un spécialiste de la PMA après six mois seulement de vie conjugale sans avoir d'enfants[10].

Dans le **Tableau 13**, on retrouve les facteurs d'infertilité masculine.

Tableau 13 : Facteurs d'infertilité masculine [240].

Infertilité masculine idiopathique	31 %
Testicule non descendu	7,8 %
Infection urogénitale	8 %
Facteurs sexuels	5,9 %
Maladie générale et systémique	3,1 %
Varicocèle	15,6 %
Hypogonadisme	8,9 %
Facteurs immunologiques	4,5 %
Obstructions	1,7 %
Autre anomalie	5,5 %

III.3. Rappel anatomo-physiologique

III.3.1. Axe hypothalamo - hypophyso-testiculaire

L'hypothalamus est une petite région située à la base du cerveau juste au-dessus de l'hypophyse et possède des liens très fournis avec les autres régions cérébrales utiles aux fonctions viscérales, autonomes et comportementales. L'éminence médiane et l'infundibulum, richement vascularisés, assurent la communication neurologique et humorale entre l'hypothalamus et l'hypophyse.

La partie postérieure de l'hypophyse (post-hypophyse) joue le rôle de réservoir pour la vasopressine et l'ocytocine qui sont sécrétées par l'hypothalamus. La partie antérieure de la glande pituitaire (antéhypophyse ou adénohypophyse) sécrète plusieurs hormones : les

gonadotrophines, FSH (follicule-stimulating hormone ou hormone folliculo-stimulante) et LH (luteinizing hormone ou hormone lutéinisante), l'ACTH, la prolactine, la GH et la TSH.

L'axe hypothalamo-hypophyséotesticulaire joue un rôle fondamental dans le processus de la reproduction notamment en assurant la maturation sexuelle lors de la puberté et le contrôle des fonctions endocrine et exocrine des testicules (**figure 27**).

L'hypothalamus sécrète de façon pulsatile la GnRH (*Gonadotrophin Releasing Hormone*) qui rejoint l'hypophyse antérieure par le système porte. Elle y déclenche la libération de deux gonadotrophines : la FSH et la LH.

- La LH stimule la production de testostérone par les cellules de Leydig testiculaires et régule ainsi la fonction endocrine du testicule.
- La FSH est responsable de l'initiation et du maintien de la spermatogenèse en agissant sur les cellules de Sertoli testiculaires. Elle régule donc la fonction exocrine testiculaire [249].

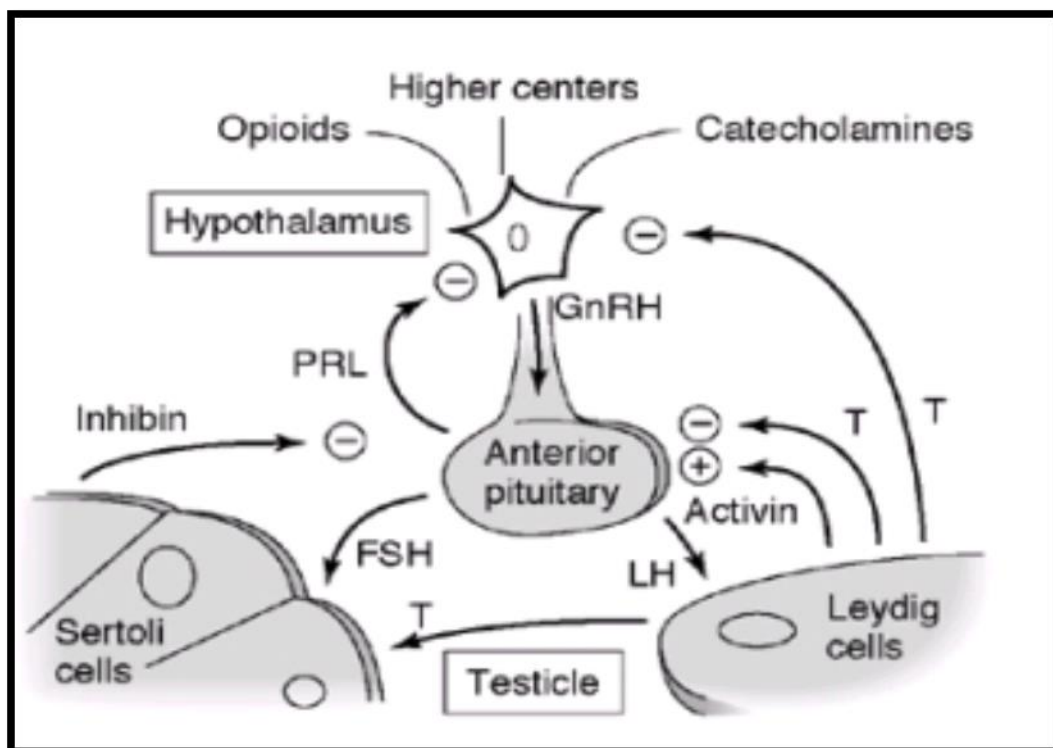


Figure 27. Axe hypothalamo - hypophyséotesticulaire et rétrocontrôles. [243]

PRL : prolactine ; T : testostérone ; + : rétrocontrôle positif ; - : rétrocontrôle négatif.

III.3.2. Testostérone

C'est un androgène, qui est une hormone stéroïdienne capable d'induire la différenciation et la maturation des organes reproducteurs masculins, de stimuler les caractères sexuels secondaires pour aboutir à un phénotype masculin normal [244].

La testostérone, hormone mâle sécrétée par le testicule, est l'androgène majeur qui exerce une action quasi ubiquitaire dans l'organisme de l'homme, directement ou par l'intermédiaire de sa bioconversion en un androgène plus puissant, la dihydrotestostérone (DHT) ou en un œstrogène puissant, l'œstradiol (E2). Le maintien d'un niveau approprié d'androgènes impose une production qui équilibre l'épuration métabolique et l'excrétion.

III.3.2.1. Biosynthèse de la testostérone

La testostérone est le principal androgène circulant. Elle est produite de façon quasi exclusive (plus de 95 %) par les cellules de Leydig du testicule, situées autour et entre les tubes séminifères, qui représentent 5 % du volume de la glande [245].

Le nombre maximum de cellules de Leydig, atteint peu après 20 ans, est de 500 millions par testicule [246]. La sécrétion globale de testostérone est de 5 à 7,5 mg/24h chez l'homme adulte normal [247]. Le contenu en testostérone du testicule de l'homme adulte est d'environ 1 µg/g de testicule, ce qui montre que la quasi-totalité de la testostérone sécrétée est libérée dans la circulation [248].

Le précurseur des androgènes est le cholestérol. Les cellules de Leydig peuvent en assurer la synthèse à partir de l'acétate, mais elles utilisent surtout le cholestérol extrait des lipoprotéines plasmatiques, et notamment de la fraction de faible densité (LDL), mais aussi celui des membranes cellulaires [249].

III.3.2.2. Régulation de la testostérone

La quantité d'androgènes du sérum utilisable par les tissus est principalement régulée par l'axe hypothalamo-hypophysaire par l'intermédiaire de l'action de la LH sur les cellules de Leydig [250].

Durant la période fœtale vers la 14e semaine, on observe une augmentation importante du nombre et de l'activité des cellules de Leydig sous l'influence de l'HCG maternelle. Avant cette période, le contrôle des cellules de Leydig et le début de la stéroïdogénèse seraient sous la dépendance d'un autre mécanisme.

Dans la période néonatale, l'action des gonadotrophines amène les taux de testostérone au niveau de ceux observés durant la puberté, puis les cellules de Leydig régressent. Durant la puberté, l'augmentation des taux de LH entraîne une deuxième phase de prolifération et de différenciation conduisant au nombre de cellules de Leydig de l'adulte [251]. La diminution de la testostérone liée à l'âge est pour partie liée à l'atrophie progressive et à la disparition des cellules de Leydig, mais également au déclin des capacités de stéroïdogénèse.

La LHRH (luteinizing hormone-releasing hormone) ou GnRH (gonadotropin-releasing hormone ou gonadoréline) est sécrétée par l'hypothalamus et stimule les cellules gonadotropes hypophysaires par l'intermédiaire d'un récepteur (GnRH-R) pour sécréter de la LH, et à un

moindre degré de la FSH. La GnRH est un décapeptide libéré par l'hypothalamus sur un mode pulsatile.

La baisse de la testostérone après castration ou lors de l'insuffisance leydigienne primitive stimule la sécrétion de GnRH, principalement en augmentant la fréquence des pulses. À l'inverse, une stimulation continue par la LHRH ou un analogue (du type de ceux utilisés pour le traitement palliatif du cancer de prostate) entraîne une « désensibilisation » des récepteurs [252].

La FSH favorise la spermatogenèse alors que la LH stimule la sécrétion d'androgènes par les cellules de Leydig. La LH agit sur les cellules de Leydig par l'intermédiaire de récepteurs (LH-R) qui font partie de la superfamille des récepteurs couplés à la protéine G (GPCR). En raison d'analogies structurelles, la gonadotrophine chorionique humaine (HCG) peut également activer la LH.

En pathologie clinique, des mutations de ces récepteurs affectent la production d'androgènes : activation responsable d'une puberté précoce ou à l'inverse, inactivation entraînant un pseudo-hermaphrodisme masculin (présence de chromosomes sexuels et de gonades « testicules » normaux, mais associés à des organes génitaux externes ressemblants à ceux de l'autre sexe).

L'activation des récepteurs de la LH au niveau de la membrane des cellules de Leydig stimule l'adényl-cyclase et entraîne la formation d'AMP cyclique (cAMP). Le cAMP active les protéine-kinases qui favorisent la conversion du cholestérol en prégnénolone [249].

La FSH et les interactions cellulaires locales participent à la régulation des cellules de Leydig. Les récepteurs à la FSH n'étant présents que dans les cellules de Sertoli, la FSH n'intervient qu'indirectement, par l'intermédiaire de facteurs sécrétés par les cellules de Sertoli [253].

L'action frénatrice (feedback négatif) des stéroïdes sexuels sur la libération des gonadotrophines s'exerce au niveau hypothalamique et hypophysaire. La LH et la FSH plasmatiques s'abaissent en quelques heures après administration de testostérone ou d'œstradiol alors que la castration (acte visant à rendre un individu incapable de se reproduire) les fait s'élever (**figure 28**).

La testostérone diminue l'expression de la sous-unité du gène de la LH, mais l'inhibition la plus importante est exercée par la testostérone, la DHT et l'œstradiol au niveau de l'hypothalamus en ralentissant le générateur de pulses hypothalamique et donc la libération de LH. La castration chirurgicale, faisant disparaître le rétrocontrôle négatif, entraîne une augmentation marquée de FSH et de LH [254].

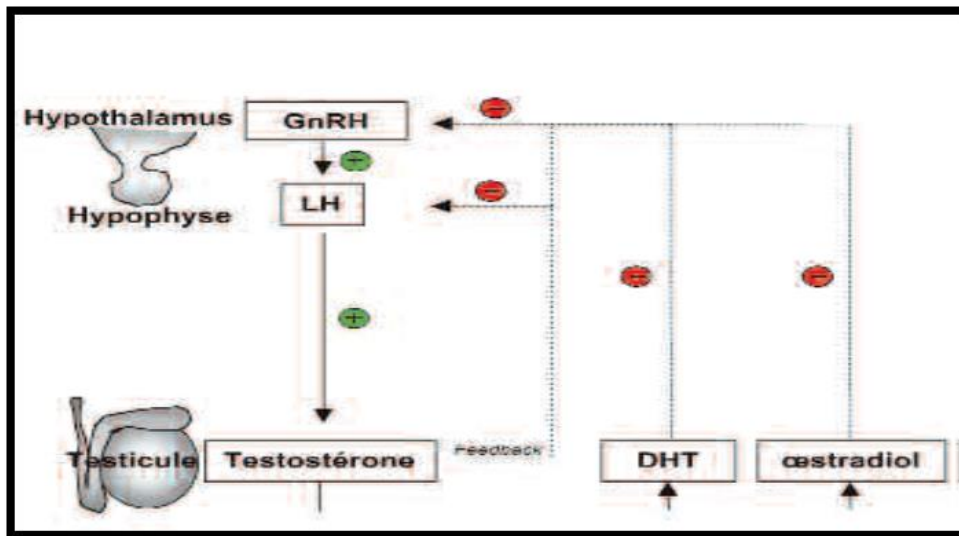


Figure 28 : Boucles de contrôle de l'axe hypothalamo -hypophyso-testiculaire [255].

III.3.2.3. Diffusion de la testostérone dans l'organisme

Les stéroïdes comme la prégnénolone, la progestérone et la testostérone diffusent librement à travers la membrane des cellules de Leydig et équilibrent rapidement les différents compartiments testiculaires. Les protéines de liaison étant rapidement saturées, ces compartiments sont exposés à de fortes concentrations de testostérone libre. La plus grande partie des stéroïdes contenus dans le liquide interstitiel diffuse alors dans le sang veineux. La concentration de testostérone dans les veines spermatiques (100-600 ng/mL) est approximativement 75 fois plus élevée que celle du sang veineux périphérique (3-10ng/mL) [256].

Dans le plasma, la testostérone circule sous 3 formes : 2 % sous forme libre, seule forme utilisable directement par les tissus, 45-75 % sont liés à la protéine de transport des stéroïdes sexuels appelée TeBG (testostérone binding-globulin) ou SHBG (sex hormone binding globulin) et 30 à 55 % sous forme liée à l'albumine [257].

III.3.2.4. Métabolisme de la testostérone

La testostérone libre, après son passage transmembranaire, peut agir directement sur le récepteur aux androgènes. C'est le cas dans certains tissus dépourvus de 5 alpha-réductase comme le muscle. Mais elle a aussi des effets indirects par le biais de métabolites actifs qui augmentent et diversifient ses effets biologiques.

Elle joue alors le rôle de pro-hormone et doit être métabolisée en androgène plus puissant, la dihydrotestostérone (DHT) qui activera le récepteur des androgènes, ou en œstrogène, l'œstradiol qui activera un récepteur différent. L'action globale de la testostérone reflète ainsi la réponse intégrée de chaque tissu à la testostérone, la DHT et l'œstradiol qui sont impliqués

dans des fonctions de différenciation sexuelle, d'érection, de croissance prostatique, de pilosité, de croissance squelettique... (Figure 29).

Elle peut enfin être transformée et éliminée. De cet équilibre entre système de synthèse et systèmes de transformation et de dégradation dépend la stabilité du taux de testostérone [255].

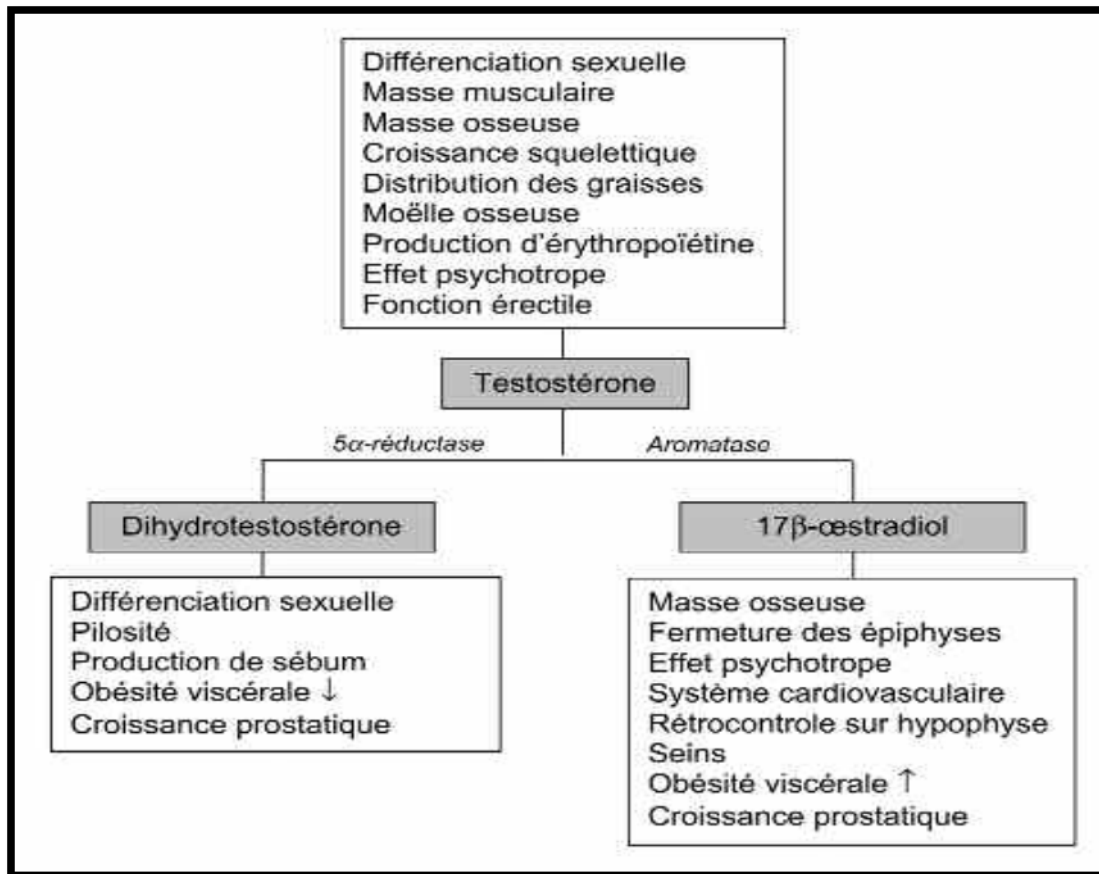


Figure 29 : Activités tissulaires et fonctionnelles spécifiques de la testostérone et de ses principaux métabolites [243].

III.3.3. Spermatogénèse

Ce processus biologique a pour but de produire les gamètes mâles, les spermatozoïdes. Les spermatozoïdes ne contiennent que 23 chromosomes, car ils sont le produit d'une cellule souche sexuelle (la spermatogonie) ayant subi une méiose.

Elle débute à la puberté, atteint son maximum vers 20-30 ans, ralentit progressivement vers la quarantaine, mais peut se poursuivre jusqu'à un âge avancé. La spermatogénèse est un processus lent et continu demandant 74 jours environ chez l'homme ; elle se déroule par poussées ou vagues successives dans les tubes séminifères. Cela dit un début de spermatogénèse (apparition de spermatogonies et de quelques spermatocytes 1) a lieu dans la période comprise entre le stade embryonnaire (3^e semaine de grossesse chez l'Homme) et la naissance [258].

III.3.3.1. Aspect histologique général

Les tubes séminifères, siège de la formation de spermatozoïdes font entre 40 et 70 cm de long pour 150 à 300 μm de diamètre. Ils sont entourés d'un tissu conjonctif contenant des cellules de Leydig sécrétant la testostérone (**figure 30**).

Les tubes séminifères se rejoignent deux par deux et confluent dans un tube droit qui débouche dans un réseau de canaux nommé ret-testis. Celui-ci se prolonge par les canaux efférents (ou cônes efférents) qui se jettent dans le canal épидидymaire, ce dernier se poursuivant par le canal déférent au niveau de l'anse épидидymo-déférentielle [257].

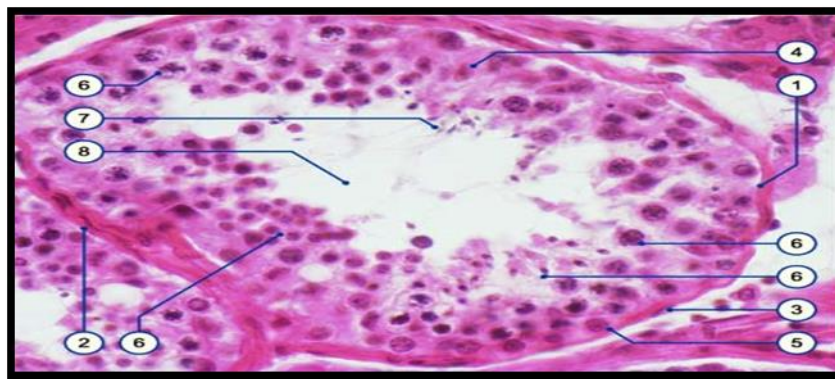


Figure 30 : Histologie du tube séminifère contourné [255]

1 : Membrane basale	2 : Fibromyoblaste	3 : Fibrocyte	4 : Cellule de Sertoli
5 : Spermatogonie A	6 : Cellules germinales	7 : Spermatozoïde	8 : Lumière

III.3. 3.2. Déroulement de la spermatogenèse

La spermatogenèse se déroule dans les tubes séminifères et comporte 3 étapes (**figure 31**) :

A- Phase de multiplication

Elle concerne les spermatogonies, cellules souches diploïdes localisées à la périphérie du tube, contre la membrane propre. Ces cellules subissent une succession de mitoses (maintien du pool de spermatogonies), dont la dernière aboutit à la formation de spermatocytes primaires, également diploïdes (une spermatogonie donne 4 spermatocytes primaires)[258].

B- Phase de maturation

Elle correspond à la méiose et concerne les deux générations de spermatocytes (primaires I ou secondaires II). Un spermatocyte I à $2n$ chromosomes subit la première division de méiose et donne ainsi 2 spermatocytes II à n chromosomes. Chaque spermatocyte II subit la deuxième

division de méiose et donne 2 spermatides à n chromosomes. Un spermatocyte I a donc donné 4 spermatides à la fin de la méiose.

C- Phase de différenciation

Appelée aussi spermiogénèse, cette phase ne comporte pas de division, mais une différenciation des spermatides en spermatozoïdes (mise en place de l'acrosome, du flagelle), qui seront libérés dans la lumière du tube séminifère [258].

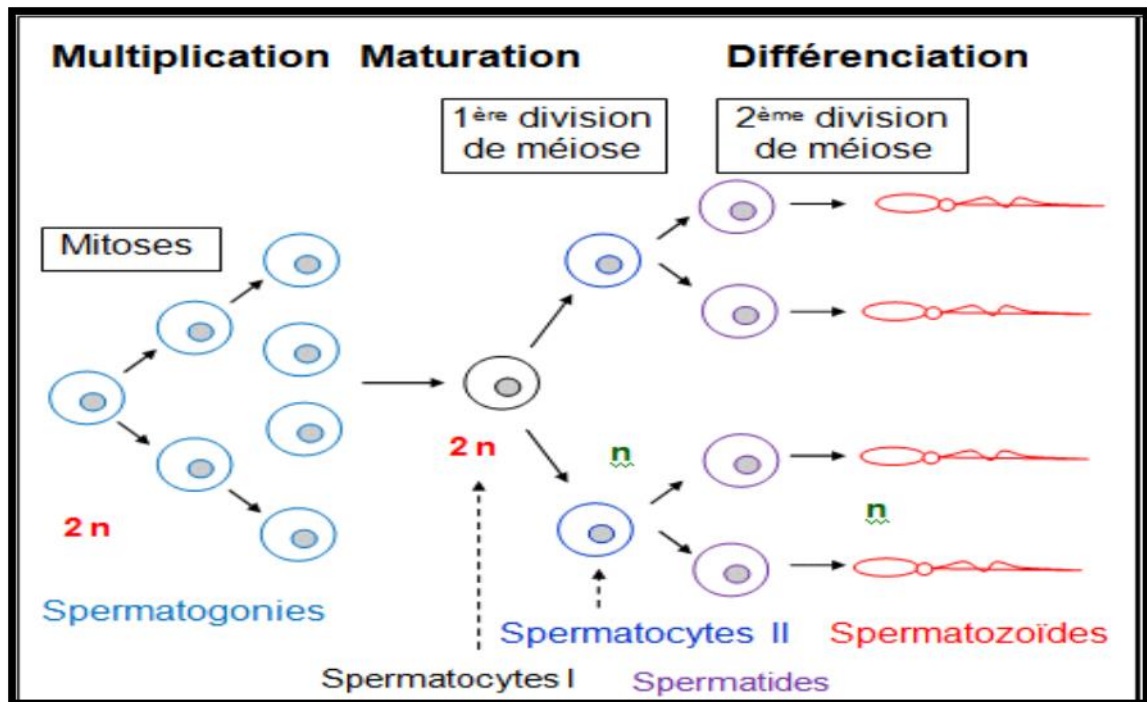


Figure 31 : Étapes de la spermatogénèse.

III.3.4. Voies génitales

Elles assurent l'acheminement des spermatozoïdes et participant à la composition du sperme, leur rôle est fondamental dans l'acquisition du pouvoir fécondant du sperme (**figure32**).

L'épididyme intervient dans la maturation des gamètes qui se fait graduellement lors du transit épидидymaire. Ce transit dure 15 jours. Les marqueurs biochimiques de l'épididyme sont l'alpha-glucosidase, la carnitine et la glycérophosphorylcholine. Le sperme chemine ensuite dans les canaux déférents puis les canaux éjaculateurs. Les vésicules séminales sécrètent le liquide séminal qui forme 50 à 80 % du volume du sperme[243].

Ce liquide est riche en prostaglandines et en fructose, source d'énergie pour les spermatozoïdes. La sécrétion prostatique assure quant à elle, 15 à 30 % du volume du sperme ; elle est riche en zinc, magnésium, acide citrique et phosphatases acides [243].

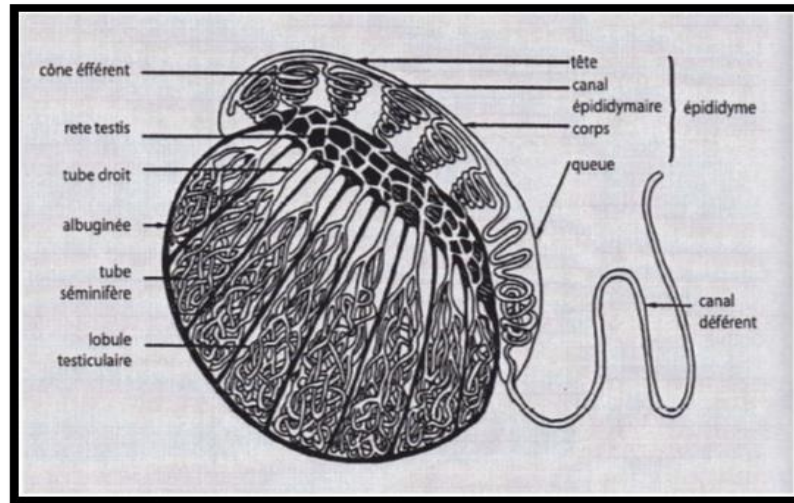


Figure 32 : Testicule et épидидyme[243].

III.4. Etiologies de l'infertilité masculine

Le mécanisme de production et d'acheminement du sperme étant un processus complexe, toute altération de ce processus peut entraîner une infertilité. Alors que certains processus pathologiques sont bien connus et leur rôle prouvé dans la genèse d'une infertilité masculine, d'autres ne sont que suspectés de diminuer la fertilité masculine et leur responsabilité peut être difficile à établir.

Différentes classifications existent en fonction de la nature du trouble. De façon schématique, on distingue :

III.4.1. Infertilités obstructives

Elles correspondent à une obstruction siégeant sur les voies excrétrices des spermatozoïdes entre les testicules et le carrefour uro-génital. Différentes pathologies peuvent être en cause.

III.4.2. Anomalies congénitales

Correspondent à l'absence de développement d'une partie plus ou moins étendue des voies excrétrices. Parmi ces anomalies il y'a l'agénésie épидидymo-déférentielle (agénésie d'une partie de l'épидидyme et du déférent) qui sont dues dans 50 % des cas à une mutation du gène CFTR (de la mucoviscidose). Des centaines de mutations sont décrites [259].

Citons également les agénésies congénitales des canaux déférents, le syndrome de Young qui associe infertilité obstructive à des troubles cliniques des voies aériennes (bronchiectasie, sinusite chronique) [243].

III.4.3. Obstructions post-infectieuses

Surviennent à la suite d'infections génitales : urétrite à gonocoque, urétrite à chlamydiae, prostatites et prostatovésiculites. La cicatrisation évolue vers l'obstruction sur le trajet du sperme. L'obstruction est souvent asymétrique.

Les infections urinaires récidivantes, surtout lorsqu'elles s'accompagnent d'orchépididymites sont également une cause d'obstruction post-infectieuse. Enfin les infections spécifiques, surtout la tuberculose uro-génitale et parfois la bilharziose peuvent également être en cause [243].

III.4.4. Obstructions iatrogènes

Il s'agit surtout de lésions accidentelles du canal déférent lors de la chirurgie herniaire, plus rarement de vasectomies réalisées dans un but contraceptif. Il peut également s'agir de lésions secondaires à une chirurgie pelvienne extensive, pour cancer par exemple [243].

III.4.5. Troubles de la spermatogenèse

Deux mécanismes peuvent être à l'origine d'un déficit de la spermatogenèse : un défaut de stimulation du testicule par atteinte de l'axe hypothalamo-hypophysio-testiculaire ou un état pathologique touchant primitivement le testicule.

III.4.6. Causes endocriniennes [243]

Elles sont secondaires à un état pathologique touchant l'hypothalamus, l'hypophyse ou l'action périphérique des androgènes.

– L'hypogonadisme hypogonadotrophique congénital : Pathologie congénitale, caractérisée par l'absence de sécrétion de LHRH hypothalamique et par conséquent absence de sécrétion de gonadotrophine et absence de puberté. Différentes mutations sont décrites ; la forme la plus fréquente est celle retrouvée dans le syndrome de Kallmann. Celui-ci a une incidence de 1 pour 10 000 naissances et associe un développement sexuel pubertaire minime ou absent, un micro pénis, une cryptorchidie, une anosmie et parfois des anomalies rénales et des déformations osseuses.

– Les insuffisances hypothalamiques ou hypophysaires organiques : Par atteinte directe de l'hypothalamus ou de l'hypophyse. Parmi les causes citons : les tumeurs hypothalamiques, les adénomes hypophysaires, l'hémochromatose.

– Les insuffisances gonadotropes fonctionnelles : Où il y'a une inhibition de la sécrétion de gonadotrophine. Exemple : hyperprolactinémie (inhibition sécrétion GnRH par la prolactine), hyperplasie congénitale des surrénales, apport exogène d'androgènes (dopage).

III.4.7. Causes testiculaires

Le processus pathologique se situe, dans ces cas, au niveau du testicule lui-même, avec diminution de la production de spermatozoïdes. Les altérations « quantitatives » de la spermatogenèse représentent la majorité des infertilités avec selon l'intensité du trouble, azoospermie ou oligospermie dites sécrétoires[242].

– Les causes génétiques : Parmi les causes génétiques il y'a les anomalies chromosomiques surtout celles touchant les chromosomes sexuels. Le syndrome de Klinefelter (47 XXY) est l'anomalie cytogénétique la plus fréquente dans ce cadre [242].

Les autres causes sont les dysgénésies gonadiques mixtes (mosaïque 45X/46XY) et le syndrome du mal XYY. La présence d'un chromosome Y surnuméraire (47 XYY) ne s'accompagne d'une infertilité que dans la moitié des cas [242].

Une autre anomalie génétique est la dyskinésie ciliaire primitive ou syndrome des cils immobiles qui a une incidence de 1 pour 20 000 naissances. C'est une anomalie autosomique récessive avec un dysfonctionnement de tous les cils de l'organisme. À l'infertilité s'associent des infections chroniques des voies aériennes (avec bronchiectasie et sinusite chronique) [243].

– La cryptorchidie : Correspondant à l'absence de descente d'un ou des deux testicules dans le scrotum, c'est une cause majeure d'altération de la spermatogenèse. La situation intra-abdominale du testicule entraîne une altération de la spermatogenèse (la physiopathologie exacte n'est pas connue, mais implique probablement une modification de l'environnement thermique) [242,243].

– Lésions testiculaires : par infection virale (oreillons : orchite ourlienne), plus rarement infections à d'autres germes, traumatismes...

– Exposition aux gonadotoxines :

- Médication : comme exemple : cimétidine, sulfasalazine, stéroïdes anabolisants, nitrofurantoïne, phénytoïne, clonidine, colchicine, lithium... ;
- Chimiothérapie anticancéreuse ;
- Radiations : radiothérapie anticancéreuse, exposition a polluants radioactifs... ;
- Produits chimiques : solvants organiques, pesticides, rejets de l'industrie du plastique... ;
- Métaux lourds : fabrication des batteries, imprimerie... ;
- Exposition à la chaleur : soudeur, boulanger, masseur hammam... ;
- Alcool, cannabis....

Dans la majorité des cas, la cause exacte des altérations de la spermatogenèse reste inconnue, on qualifie alors ces azoospermies ou oligoasthénospermie idiopathique [242,243].

III.4.8. Altérations extrinsèques des spermatozoïdes

Dans ce cas des facteurs extrinsèques interviennent à la fin de la spermatogenèse et après formation de spermatozoïdes normaux et leur font subir des altérations morphologiques ou fonctionnelles. Exemple :

– Les infections du tractus génital masculin : en dehors de l'obstruction séquelle, l'inflammation du tractus génital entraîne aussi une diminution de la mobilité des spermatozoïdes (asthénospermie) et une diminution de leur pouvoir fécondant.

– L'auto-immunisation anti-spermatozoïde [243].

III.4.9. Troubles de l'éjaculation

Peuvent également être à l'origine d'une infertilité masculine. Ils s'accompagnent d'hypospermie (diminution volume du sperme) ou d'aspermie (absence de sperme). Il peut s'agir d'une :

– Anéjaculation : absence d'éjaculation. Les causes en sont multiples : lésions neurologiques (lésion moelle épinière, neuropathies, chirurgie aortique, curage para-aortique.), causes psychogènes et médicaments (neuroleptiques).

– Éjaculation rétrograde : L'éjaculat passe dans la vessie et se mélange aux urines. Elle se voit surtout après chirurgie de l'adénome de prostate (endoscopique ou ouverte), mais peut être due à une neuropathie diabétique ou certains médicaments [243].

III.5. Bilan d'une infertilité masculine

III.5.1. Interrogatoire

Il doit être très rigoureux et dresse une liste exhaustive d'antécédents, on recherche :

- Une anomalie de la puberté, un trouble du coït ;
- Des épisodes infectieux épididymo-déférentiels (viraux ou bactériens, en particulier orchite ourlienne post-pubertaire) ;
- Des antécédents chirurgicaux : cryptorchidie, hypospadias, hernie et varicocèle ;
- Prise médicamenteuse ou toxique : exemple : traitements hormonaux (androgènes, œstrogènes, gonadotrophine...), chimiothérapie, neuroleptique, tabagisme, toxicomanie, intoxication professionnelle...;
- Radiothérapie / Traumatismes ;
- Diabète et pathologie neurologique ;
- Habitudes alimentaires : exemple : sous ou suralimentation et éthylysme ;

III.5.2. Examen clinique

L'examen a pour but d'apprécier différents facteurs (état général, états anatomiques de la verge, des testicules, de l'épididyme, Apparition de pathologies de type varicocèle, gynécomastie...).

Pour catégoriser une infertilité, les deux partenaires doivent être explorés simultanément et dans le diagnostic et la gestion de l'infertilité masculine, le statut de la fertilité de la partenaire féminine doit être pris en compte, dans la mesure où il peut déterminer le devenir final [246].

III.5.3. Examens complémentaires**III.5.3.1. Spermogramme**

Le spermogramme est l'examen de base, il doit être répété au moins 2 fois en cas d'anomalie (tableau 14, 15, 16)

Tableau 14 : Paramètres de faisabilité d'un spermogramme [240]

Laboratoire agréé pour les inséminations	Garantit la qualité de l'analyse
2 à au moins 3 mois d'intervalle	1 cycle de spermatogenèse = 74 jours
Expliquer la variabilité des résultats	<ul style="list-style-type: none"> •Toujours raisonner sur plusieurs examens •Vérifier l'absence de fièvre intercurrente
Conditions de réalisation	<ul style="list-style-type: none"> •Délai d'abstinence : 3-5 jours sans éjaculation •Lieu du recueil : laboratoire d'analyse (pas à la maison) •Conditions de recueil : toilette de la verge

Tableau 15 : Normes anciennes et actuelles du spermogramme

	anciennes normes [205]	nouvelles normes [205]
Volume éjaculat	2 à 6 mL	1,5 (1,4 – 1,7)
pH	7,0 à 8,2	> 7,2
Numération des spermatozoïdes	> 20 millions/mL	39 (33 – 46)
Mobilité	> 40 %	40 % (38 – 42)
Vitalité	> 60 %	58 % (55 – 63)

Tableau 16 : Anomalies du spermogramme [243]

<i>Hypospermie</i>	Volume éjaculatoire complet inférieur à 2 mL.
<i>Aspermie</i>	Volume éjaculatoire nul.
<i>Oligozoospermie</i>	Concentration en spermatozoïdes < 20 millions/mL
<i>Azoospermie</i>	Absence de spermatozoïdes sur éjaculat « frais »
<i>Cryptozoospermie</i>	Quelques spermatozoïdes sur le culot de centrifugation examiné à fort grossissement ($\times 400$), mais pas sur l'examen de l'éjaculat « frais ».
<i>Akinétospermie</i>	Mobilité nulle de tous les spermatozoïdes du recueil.
<i>Tératozoospermie</i>	Nombre de spermatozoïdes anormaux supérieur à 70 %.
<i>Nécrozoospermie</i>	Baisse de vitalité des spermatozoïdes.

III.5.3.2. Dosages hormonaux, radio-immunologiques [243]

- Dosage de FSH plasmatique: il permet de différencier une azoospermie sécrétoire (taux augmenté ou diminué en fonction du siège de l'atteinte) d'une azoospermie excrétoire (taux normal) ;
- En fonction du contexte, dosage de la LH plasmatique, de la testostérone, de la prolactinémie ;
- Test au LH-RH pour différencier une oligoasthénospermie excrétoire (FSH normal sous LHRH) d'une oligoasthénospermie sécrétoire (FSH augmenté sous LH-RH).

III.5.3.3. Autres examens [243]

- Étude bactériologique du sperme en cas d'infection ;
- Échographie doppler testiculaire si varicocèle ;
- Immunologie du sperme : recherche d'anticorps anti spermatozoïdes ;
- Échographie endorectale : anomalie du carrefour vésiculo prostatique ;
- Étude biochimique du plasma séminal : recherche des différents marqueurs.

III.5.3.4. Biopsie testiculaire [243]

Les indications de la biopsie ont beaucoup diminué, elle est réalisée à titre diagnostique dans les azoospermies. En général elle est réalisée à titre pronostique dans les infertilités sécrétoires (actuellement remplacée par les dosages de FSH). La biopsie testiculaire est souvent chirurgicale au cours d'une exploration testiculaire.

CHAPITRE IV : IMPACT DE L'EXPOSITION AU BPA SUR LA FERTILITÉ MASCULINE

Les effets toxiques sur l'appareil reproducteur sortent du lot des effets imputables à l'exposition au BPA. De ce fait, selon le règlement CLP (Classification, Labelling, Packaging), le BPA est classé dans la catégorie 3 des substances « **reprotoxiques** », c'est-à-dire préoccupantes, pour la fertilité de l'espèce humaine [260].

IV.1. Études épidémiologiques chez l'homme (Tableau 17)

Les effets du BPA sur le système reproducteur masculin sont controversés. Les experts soulignent la difficulté de conclure sur la base des études épidémiologiques, car celles-ci ne convergent pas totalement. Les populations étudiées n'étant pas toujours identiques dans les études analysées (hommes fertiles, hommes infertiles, travailleurs...etc). L'évaluation concernait :

- Les performances sexuelles masculines ;
- L'Altération de la qualité du sperme ;
- La modification des concentrations d'hormones masculines.

Entre autres études, Liang *et al.* rapportent, chez des hommes fumeurs, une association entre l'élévation de la LH sérique et celle du BPA urinaire de même que chez les sujets présentant un indice de masse corporelle inférieur à 25 kg/m². L'élévation du BPA urinaire est également, associée à celle de la FSH sérique chez ces mêmes fumeurs ; elle est par contre, associée à une baisse de la testostérone totale chez les sujets présentant un IMC supérieur ou égal à 25 kg/m². Ces données suggèrent que les effets du BPA sur les niveaux hormonaux pourraient être modifiés en rapport avec le tabagisme et l'IMC [261].

Li *et al.* rapportent, chez des travailleurs masculins chinois, une association entre le niveau élevé d'une exposition cumulée de BPA, objectivée par un dosage urinaire et un risque élevé de troubles de la fonction sexuelle. Les auteurs rapportent une altération des caractéristiques spermatiques, notamment, une diminution de la concentration et de la mobilité des spermatozoïdes [262].

L'évaluation de la fonction sexuelle a eu lieu sous forme de questionnaires. Les travailleurs ne savaient pas que le BPA était la substance d'intérêt étudiée. Leur exposition a été évaluée selon leur position et leur poste de travail au sein de l'entreprise. L'exposition à d'autres substances chimiques a été vérifiée.

Les performances sexuelles des travailleurs exposés semblaient être significativement diminuées par rapport à celles des contrôles. Les critères d'évaluation étaient : la fonction érectile, l'orgasme, le désir sexuel et la satisfaction générale avec leur vie sexuelle. De plus, la diminution de la fonction sexuelle semblait dépendante de l'importance de l'exposition au BPA. Lorsque les urines de ces travailleurs ont été analysées, on a pu observer que les concentrations

de BPA les plus importantes étaient corrélées avec une baisse des performances sexuelles rapportées.

De nombreuses études ont observé des variations des taux d'hormones sexuelles endogènes en relation avec une exposition au BPA chez des adultes et des nouveau-nés. Les hormones en question sont les œstrogènes, les androgènes, les gonadotrophines ainsi que la SHBG (Sex Hormone-Binding Globulin), protéine de transport de la testostérone [174].

Ainsi, une étude a été réalisée, aux États-Unis, par Meeker *et al.* sur une population d'hommes inféconds ; la concentration urinaire de bisphénol A était associée à une diminution de la concentration et de la mobilité spermatique de même qu'à une augmentation du taux plasmatique de FSH, à une diminution du taux d'inhibine B et du ratio œstradiol/testostérone [263].

Dans le volet des atteintes génitales masculines, on retrouve la cryptorchidie et l'hypospadias, qui représentent les deux malformations génitales mâles les plus communes. Leur origine est difficile à déterminer, mais l'exposition des fœtus *in utero* à certains PE a pu être mise en cause [264,265].

Cependant, il est également possible que des variations génétiques individuelles puissent moduler les effets des PE sur ces malformations congénitales. Les métallo-protéinases matricielles (MMP) sont des facteurs connus pour être impliqués dans la dégradation de la matrice extracellulaire dans des processus physiologiques normaux, tels que le développement embryonnaire, la reproduction et le remodelage tissulaire.

Dans une étude antérieure, les auteurs ont montré que l'expression de l'une d'entre elles, la métallo-protéinase matricielle 11 (MMP11), était significativement plus faible chez les patients atteints d'hypospadias que chez ceux atteints de cryptorchidie et était diminuée par une exposition au BPA. Cela suggérait que l'implication du BPA dans le développement de l'hypospadias pouvait être liée à l'inhibition de l'expression de MMP11 [266].

La susceptibilité individuelle à de faibles doses de BPA a été étudiée dans des cellules fibroblastiques de prépuce provenant de patients contrôles, ou de patients atteints de cryptorchidie ou d'hypospadias. Une exposition des cellules à une concentration de 10 nM de BPA diminue l'expression de MMP11 uniquement dans le groupe hypospadias et ne modifie pas celle d'un autre gène impliqué dans la progression tumorale, le récepteur à la neurotensine (NTSR1), pourtant retenue par les auteurs comme gène cible potentiel du BPA [267].

Tableau 17 : Impact de l'exposition au BPA sur la fertilité masculine humaine. Principales études épidémiologiques.

Étude	Population	Exposition			Paramètres de santé	Résultats et remarques
		Estimation	Niveau d'exposition	Co-exposition		
Fonction hormonale Hanaoka et al. [288] (Japon)	42 travailleurs exposés 42 travailleurs non exposés	Dosage urinaire de BPA (prélèvement urinaire et plasmatique le même jour)	Médiane [min-max] : Exposés : 1,1 [$<LD-11$] $\mu\text{g/mol}$ créatinine Non exposés : 0,5 [$<LD-11$] $\mu\text{g/mol}$ créatinine	Solvants organiques	Dosage plasmatique : LH, FSH, testostérone (T)	↓ du taux de FSH ($p=0,05$) chez les exposés par rapport aux non exposés ; Pas de différence nette du taux de LH ($p=0,65$). Pas de différence nette du taux de testostérone ($p=0,75$).
Meeker et al. [263] 2010 (États-Unis)	167 patients masculins consultant pour infertilité	Dosage urinaire (prélèvement urinaire et plasmatique le même jour)	Médiane et moyenne géométrique [25e-75e percentiles] : 1,3 [0,7-2,4] $\mu\text{g/L}$ de BPA	Non décrites	Dosage plasmatique LH, FSH, Inhibine B, FSH/Inhibine B, T, T libre, SHBG, FAI, T/LH, E2, E2/T, proline, T4 libre, T3 totale, TSH	↑ du taux de FSH, du rapport FSH/Inhibine B et du rapport E2/T ↓ du taux de l'inhibine B
Mendiola et al. [268] 2010 (États-Unis)	375 hommes partenaires de femme enceinte	Dosage urinaire (prélèvement urinaire et plasmatique le même jour)	50e percentile [25e-75e percentiles] : 1,7 [0,80-3,0] $\mu\text{g/L}$	Non décrites	Dosage plasmatique LH, FSH, T, Inhibine B, SHBG, E2, FAI, T libre, FAI/LH, FT/LH, T/E2 ratio, T/LH	↓ du taux de l'index FAI (free androgen index) et du ratio FAI/LH ↑ du taux SHBG

Étude	Population	Exposition			Paramètres de santé	Résultats et remarques
		Estimation	Niveau d'exposition	Co-exposition		
Caractéristiques spermatiques Meeker et al [263] (États-Unis)	190 patients masculins consultant pour infertilité	Dosage urinaire (prélèvement urinaire et recueil de sperme le même jour)	Médiane et moyenne géométrique [25e-75e percentiles] : 1,3 [0,8-2,5] µg /L	Non décrites	Caractéristiques spermatiques	Concentration urinaire de BPA associée à : ↓ de la concentration spermatique (p=0,05), ↓ de la mobilité spermatique (p=0,10), ↓ de la proportion de spermatozoïdes avec une morphologie considérée normale (p=0,05)
Mendiola et al [268] (États-Unis)	317 hommes partenaires de femme enceinte	Dosage urinaire (prélèvement urinaire et recueil de sperme le même jour)	50e percentile [25e-75e percentiles] : 1,7 [0,80-3,0] µg /L	Non décrites	Caractéristiques spermatiques	Pas d'association observée entre les taux de BPA et les caractéristiques spermatiques
Li et al [269] (Chine)	218 hommes (130 exposés professionnellement et 88 non exposés professionnellement)	Activité professionnelle et validation par dosage urinaire	50e percentile [25e-75e percentiles] : Exposés : 39 [6-354] µg/g créatinine Non-exposés : 1 [0-18] µg/g créatinine	Autres polluants chimiques, métaux lourds	Caractéristiques spermatiques	↓ de la concentration, de la numération totale, de la vitalité et de la mobilité spermatiques

Étude	Population	Exposition			Paramètres de santé	Résultats et remarques
		Estimation	Niveau d'exposition	Co-exposition		
<p>Fonction sexuelle</p> <p>Li et al [270] [Chine]</p>	<p>164 travailleurs exposés travailleurs de 4 usines produisant ou utilisant du bisphénol A</p> <p>386 travailleurs non exposés : travailleurs n'utilisant pas de bisphénol A, ou certains maris non-exposés de femmes travailleuses non-exposées</p>	<p>Dosage urinaire du BPA avec validation analytique</p>	<p>50ème percentile [25e-75e percentiles]</p> <p>Exposés : 58 [13-467] µg/g créatinine</p> <p>Non-exposés : 1 [0-11] µg/g créatinine</p>	<p>Autres polluants chimiques, métaux lourds (13 % des sujets non exposés, 59 % des exposés)</p>	<p>Questionnaires sur : dysfonction érectile, dysfonction orgasmique, désir sexuel, satisfaction vis-à-vis de la vie sexuelle</p>	<p>Odds-ratios [OR] associés à l'exposition au BPA :</p> <p>OR=3,9 [IC 95 % : 1,8 -8,5] pour la difficulté à obtenir une érection</p> <p>difficultés à éjaculer ; OR=3,9 [2,3-6,6]</p> <p>Résultats globalement inchangés après exclusion des hommes déclarant être exposés aux autres polluants chimiques et métaux lourds</p>
<p>Li et al[269] [Chine]</p>	<p>427 travailleurs : 174 exposés et 253 non exposés</p>	<p>Dosage urinaire du BPA</p>	<p>Idem que l'étude précédente</p>	<p>Idem que l'étude précédente</p>	<p>Questionnaire sur : dysfonction érectile, dysfonction orgasmique, désir sexuel, satisfaction vis-à-vis de la vie sexuelle</p>	<p>Associations monotones, entre le taux de BPA et les différents paramètres de dysfonction sexuelle étudiés.</p> <p>Résultats globalement inchangés, après exclusion des hommes déclarant être exposés aux autres polluants</p>

IV.2. Etudes *in vivo/in vitro*

L'altération de la production spermatique en lien avec une exposition de 5 semaines à l'âge adulte au BPA est avérée. Les effets observés par voie orale dans l'étude de Chitra *et al.* ainsi que ceux observés par voie sous-cutanée dans l'étude d'Herath *et al.*, sont convergents pour ce paramètre uniquement pour une exposition survenant à l'âge adulte [271,272].

Les effets sur le système reproducteur mâle (diminution des concentrations plasmatiques de testostérone et modification du comportement sexuel), dus à une exposition pendant la période pubertaire, sont suspectés.

Les effets sur le système reproducteur mâle dus à une exposition pendant les périodes d'exposition prénatale, néonatale et postnatale (lactation) sont controversés.

IV.2.1. Exposition pendant la gestation et la lactation

Une étude chez des rates de 8 semaines [273] a été réalisée par gavage aux doses de 0,375 ; 1500 ou 3000 mg/kg/j de bisphénol A diglycidyl éther (BADGE), de pureté inconnue, administré dans de l'huile de maïs. Toutes les mères du groupe 3000 mg/kg/j sont décédées avant la parturition, ainsi que 8 mères sur 12 dans le groupe 1500 mg/kg/j avec une seule portée constituée de 3 mâles de faible poids et de température corporelle basse.

Dans le groupe 375 mg/kg/j, aucune toxicité maternelle n'a été rapportée (pas de perte de poids). Il a été observé chez la descendance mâle du groupe 375 mg/kg/j :

- Une diminution du gain de poids des nouveau-nés ;
- Une augmentation du poids relatif des glandes surrénales, des poumons, des testicules de l'épididyme et de la prostate ;
- Un taux de testostérone postnatal plus élevé par rapport au groupe contrôle. Il n'y a pas de différence des taux d'œstrogène entre les animaux contrôles et traités [273].

Une étude chez des rates âgées de 9 semaines [274] a été réalisée par gavage aux doses de 0 ou 375 mg/kg/j de BADGE (pureté inconnue) administré dans de l'huile de maïs. Les auteurs se sont intéressés chez la descendance à l'épididyme des rats : poids, histologie et expression tissulaire de la clusterine. Il s'agit d'une glycoprotéine, non spécifique de l'épididyme, impliquée dans de nombreux mécanismes cellulaires et physiologiques, dont la maturation du sperme. Aucune toxicité maternelle n'est rapportée.

Il a été observé chez la descendance mâle issue du groupe traité :

- Un gain de poids moins important à partir du 21^{ème} jour postnatal ;
- Une augmentation de la distance ano-génitale ajustée au poids au 7^{ème} et 14^{ème} jour, mais pas au 21^{ème} jour ;
- Aucune modification du poids et de la structure histologique de l'épididyme [274].

IV.2.2. Exposition pubertaire

L'étude de Della Setta *et al.* a étudié les effets du BPA sur la fonction de reproduction mâle à des doses compatibles avec une exposition humaine après une exposition pubertaire. Ainsi, les rats ont été exposés au cours de la puberté (Post Natal Day [PND23 à PND30]), par voie orale, à 40 µg/kg /j de BPA, et parallèlement un autre groupe de rats a été exposé à 0,4 µg/kg /j d'éthinylestradiol (EE2) [275].

Une diminution significative des concentrations de testostérone a été observée à la fois avec le BPA et l'EE2 chez les animaux juvéniles. Cette diminution persistait chez les animaux à l'âge adulte de manière statistiquement significative chez les animaux traités avec le BPA uniquement, aucune modification significative de la concentration d'œstradiol n'a été observée [275].

IV.2.3. Exposition à l'âge adulte

L'étude de toxicité aiguë chez le rat Sprague-Dawley a été réalisée par administration d'une dose unique de 0, 5 ; 750 ; 1000 ou 2000 mg/kg de BADGE (pureté inconnue) par gavage dans de l'huile de maïs. Il a été observé :

- Une augmentation dose-dépendante statistiquement significative de la proportion de tubules séminifères immatures par rapport aux tubules séminifères matures ;
- Une diminution de la mobilité du sperme et une augmentation des anomalies des spermatozoïdes à 2000 mg/kg/j ;
- Une toxicité systémique (diminution de la consommation de nourriture et d'eau) a été observée dans les groupes 1000 et 2000 mg/kg/j [276].

Dans une autre étude, des rats mâles adultes ont été traités par une dose de BPA de 2 µg/kg/jr pendant 14 jours. Il ne s'agit pas réellement d'une étude chronique, mais l'intérêt réside ici encore dans la faible dose utilisée. Cette exposition a résulté en une diminution du nombre de spermatozoïdes et de cellules germinales, associées à une diminution d'hormones dont la testostérone et à une activation de l'apoptose [277].

Dans une autre étude, il a été établi une relation entre BPA à faibles doses (25 µg à 600 µg /kg/jr) et incidence croissante du cancer de la prostate et de l'hypertrophie bénigne de la prostate, chez le rat adulte. En effet, l'expression de l'ARN messager de plusieurs enzymes impliquées dans la biosynthèse de la dihydrotestostérone et de l'œstradiol est modifiée sous l'effet de l'exposition au BPA.

De plus, le rapport œstradiol/testostérone est augmenté dans le plasma des rats exposés, ce qui est aussi le cas dans les maladies de la prostate [278].

Enfin, dans une autre étude, dont le but était de rechercher comment de faibles concentrations de BPA de l'ordre du nanomolaire stimulaient la prolifération des cellules de spermatogonies de souris. Il est actuellement débattu que les effets à faibles doses du BPA passent par les

récepteurs aux œstrogènes. Ici, les auteurs montrent que le récepteur GPR30 pourrait jouer un rôle dans la prolifération de cellules germinales mâles exposées au BPA [279].

IV.3. Exposition en milieu professionnel

Comme cité dans le premier chapitre, les PE appartiennent à plusieurs familles chimiques : bisphénol A, phtalates, alkylphénols, PCB, dioxines, polybromés, perfluorés, pesticides, parabènes, métaux lourds... etc. On les localise pour beaucoup d'entre eux de façon ubiquitaire et large dans des produits de consommation courante (produits d'entretien, emballages, cosmétiques, plastiques, jouets... etc). Ce qui explique que la plupart des études aient été réalisées en population générale afin de mesurer les effets de ces PE environnementaux.

Cependant, il est fait le constat qu'en milieu de travail, il y a relativement peu d'études spécifiques sur les conséquences d'une exposition unique au BPA. En milieu de travail, il est attendu que les expositions soient plus importantes, le plus souvent multiples et pouvant survenir plus tardivement dans la vie des sujets[8].

IV.3.1. Contexte professionnel de l'exposition dans l'industrie du plastique[227]

La transformation des matières plastiques se fait en ramollissant la résine à l'aide de la chaleur et de la pression. Plusieurs méthodes différentes sont employées pour donner une forme à la résine afin de fabriquer des produits finis. Parmi les principales méthodes, il y a le moulage par injection, l'extrusion, le moulage par soufflage, le calandrage et le moulage par compression.

L'utilisation de températures élevées et de fortes pressions pour faire fondre la résine produit différentes émissions. La surchauffe des matières plastiques lors des opérations de transformation, de nettoyage, de purge et d'entretien peut exposer les travailleurs à un mélange complexe de produits de la combustion. Parmi ces contaminants, on peut citer : le chlorure d'hydrogène provenant du PVC, le styrène émanant du polystyrène, les produits azotés qui se dégagent du nylon et de l'acrylonitrile et le cyanure libéré par l'uréthane. Les opérations de finissage peuvent exposer les travailleurs à plusieurs autres composés chimiques, notamment ceux qui se retrouvent dans les peintures, les solvants et les adhésifs.

Les étapes de fabrication du plastique se font sur plusieurs étapes :

– Moulage par injection : les granules sont versées dans une trémie, puis chauffées dans un cylindre d'injection. Le plastique chauffé est injecté dans un moule de métal à l'aide d'une vis sans fin. Les pièces sont maintenues sous pression jusqu'à ce qu'elles soient refroidies, elles sont ensuite retirées et ébarbées. Lors de ce procédé, les travailleurs peuvent être exposés aux résines fondues, aux agents de démoulage et aux solvants de nettoyage. De plus, au moment où les filières s'ouvrent, de la fumée et des vapeurs se dégagent de la pièce de plastique et du moule.

– L'extrusion : Cette méthode ressemble au moulage par injection, mais au lieu de forcer la résine fondue dans un moule, la vis pousse continuellement la résine fondue à l'intérieur d'une filière de métal de la forme voulue. Cette méthode peut être utilisée dans la fabrication de tuyaux, de tubes ou de feuilles, ou durant la production de résine où la matière extrudée est ensuite coupée en granules. Les travailleurs peuvent être exposés aux résines chauffées.

– Moulage par soufflage : Un tube creux de plastique chauffé est formé, généralement par extrusion, et placé dans un moule de la forme voulue. On remplit ensuite ce tube d'air à haute pression afin de pousser le plastique contre les parois du moule.

Ce procédé est utilisé pour fabriquer des bouteilles et des réservoirs à combustible. Les travailleurs peuvent être exposés aux résines chauffées et à différents agents d'expansion.

– Les procédés de finissage : nécessitent l'utilisation de peintures, d'adhésifs et de solvants. Les plastiques moulés doivent souvent être ébavurés, percés et poncés avant d'être emballés et expédiés. Il arrive que certains produits doivent également être assemblés.

Les travailleurs peuvent être exposés à la poussière de polymère produit par le ponçage et le meulage ainsi qu'aux vapeurs de peinture et de solvant durant les travaux de finissage. En règle générale, les matières plastiques mises au rebut sont recyclées après avoir été meulées.

– La purge et entretien : Enfin, les machines à mouler doivent être purgées des résines utilisées précédemment pour les changements de couleur ou de type de polymère. Pour ce faire, on force les résines et les produits de purge à passer dans les presses à de très hautes températures. En raison de la température élevée, le processus de purge dégage de grandes quantités de vapeur, de fumée et de gaz et divers sous-produits auxquels les travailleurs peuvent être exposés.

– Autres activités : La manipulation de résines, de produits intermédiaires et d'additifs peut également entraîner une exposition des travailleurs. Des activités telles qu'ouvrir des sacs et des cylindres, procéder à une manutention manuelle et au meulage, verser des granules et des poudres de résine dans des filières peut exposer les travailleurs à des quantités importantes de poussières de résine.

IV.3.2. Etudes réalisées en milieu professionnel sur l'exposition au BPA

Les enquêtes visant à évaluer l'exposition professionnelle au BPA se concentrent souvent sur les données d'exposition et leur interprétation. Parfois, les enquêtes limitent les considérations relatives aux effets potentiels sur la santé. Tout effet indésirable pris en compte dans la littérature s'est principalement concentré sur la capacité du BPA à agir comme un perturbateur endocrinien : en particulier pour les fonctions reproductives masculines ou féminines, et altération des niveaux d'hormones thyroïdiennes et sexuelles. Cette perspective est compréhensible compte tenu de la sensibilité de la sphère de la reproduction, ce qui affecte considérablement la qualité de vie des individus et les preuves de la littérature concernant la capacité du BPA à agir comme un xénoestrogène.

Dans le tableau 18 sont résumées les quelques études, réalisées à travers le monde, sur l'exposition professionnelle au BPA[8].

Tableau 18: Exposition au BPA en milieu professionnel [8].

	Type d'étude	N	Population	Concentration moyenne de BPA	Résultats	Réf
Étude des urines	Cas/Témoin	90 cas/ 44 témoins	Caissiers exposés au papier thermique (exposition cutanée)	2,98 ^c - 6,76 ^c	Une augmentation, significative, du taux de BPA totale a été observée chez les caissiers manipulant, quotidiennement, les reçus de papier thermique.	[280]
Étude des urines	Cas/Témoin	108 cas/ 88 témoins	travailleurs d'une usine plastique	25,10 ^a – 43,88 ^a	Une augmentation significative du BPA urinaire, a été notée chez les travailleurs qui ont une expérience de plus de 6 ans.	[281]
Troubles biologiques	Transversale	28	Travailleurs dans deux usines semi-automatiques de résine époxy	31.96 ^{b, c}	Des concentrations plus élevées de BPA étaient associées à des anomalies cliniques, associées à des perturbations des taux de FT3, FT4, TSH, transaminase glutamique-oxaloacétique et la glutamyl transférase.	[282]
Troubles sexuels masculins	Cas/Témoin	230 cas/ 404 témoins	Travailleurs dans la fabrication de résine époxy	1.2 ^c – 57.9 ^c	Les travailleurs exposés avaient un risque, statistiquement, plus élevé de présenter des troubles érectiles (OR = 4,5 ; IC à 95 % 2,1 à 9,8) et des troubles de l'éjaculation (OR = 7,1 ; IC à 95 % 2,9 à 17,6).	[270]
Troubles des hormones de la reproduction	Cas/Témoin	106 cas/ 250 témoins	Les travailleuses dans la fabrication de résine époxy	0,9 ^{b, c} - 22.2 ^{b, c}	Une association, positive, significative, a été trouvée entre le niveau de BPA urinaire et la concentration sérique de la prolactine et de la progestérone.	[283]
Troubles des hormones de la reproduction	Transversale	592	Travailleurs masculins dans l'industrie plastique	685.9 ^{c, d}	Les hommes, dont le taux de BPA urinaire se situait dans le deuxième, le troisième et le quatrième percentile avaient, respectivement, 1,58, 1,33 et 3,09 fois plus de chances d'avoir des taux élevés de prolactine.	[284]
Étude sérique et reproduction	Cas/Témoin	281 cas/ 278 témoins	Travailleurs exposés au BPA	18,75 ^e	Une augmentation du taux sérique de BPA a été associée à : <ul style="list-style-type: none"> • Une diminution du taux sérique d'androstènedione (0,18 ng/mL- IC 95 % : 0,22 – 0,13). • Une augmentation du taux sérique de SHBG (2,79 nmol/L- IC 95 % : 2,11– 3,46). 	[285]
Étude sérique et taux hormonaux	Transversale	290	Travailleurs masculins, avec et sans exposition au BPA	0.27 ^{d, e} - 3.19 ^{d, e}	L'augmentation du taux sérique de BPA était, statistiquement, associée à une diminution des taux d'androstènedione, du taux de testostérone libre, et de l'index des androgènes libres.	[286]

	<i>Type d'étude</i>	<i>N</i>	<i>Population</i>	<i>Concentration moyenne de BPA</i>	<i>Résultats</i>	<i>Réf</i>
Dosage urinaire / étude des paramètres la reproduction	Transversale	427	Travailleurs de sexe masculin dans l'industrie de résine époxy, exposés et non au BPA	1,2 ^{c,d} -53 ^{c,d}	L'augmentation du taux de BPA dans l'urine était associée à plus de troubles de l'érection et à une force d'éjaculation inférieure.	[269]
Dosage urinaire et sérique / étude des paramètres de la reproduction	Transversale	592	Travailleurs dans les usines et membres de leurs familles	24,93 ^c et 2,84 ^e	La moitié des sujets de l'étude avaient du BPA détectable dans leurs échantillons d'urine. Les niveaux de BPA étaient influencés par le sexe et le tabagisme	[287]
Dosage urinaire / étude des paramètres la reproduction	Cas / Témoin	42 hommes exposés /42 témoins	Les travailleurs dont le travail consistait à vaporiser la résine époxy	0,52 ^{d,f} -1,06 ^{d,f}	Les résultats suggèrent que le BPA peut perturber la sécrétion des hormones gonadotrophiques, chez les hommes	[288]
Dosage sérique / étude du syndrome de l'ovaire poly kystique	Cas / Témoin	62 femmes avec syndrome de l'ovaire multi kystique / 62 femmes témoins	Femmes avec syndrome des ovaires multikystiques, travaillant comme vendeuses dans le marché Femmes en bonne santé (témoins)	0,16 ^e -0,48 ^e	Chez les femmes atteintes, le niveau de BPA était plus élevé que chez les femmes en bonne santé ; avec des taux plus élevés de triglycérides, de cholestérol et de TSH.	[289]
Dosage urinaire / étude des paramètres la reproduction	Cas/Témoin	110 travailleurs/113 témoins	Travailleurs dans l'industrie pétrochimique Travailleurs dans l'industrie non pétrochimique	0,628*-0,457*	Les concentrations sériques de BADGE étaient suffisamment élevées pour produire une altération hormonale, mais ne montrent pas de différence significative entre les cas et les témoins.	[290]
Dosage urinaire / étude de la qualité spermatique	Cas/Témoin	130 cas / 88 témoins	Travailleurs dans les usines avec et sans exposition au BPA	1,4 ^{c,d} -38,7 ^{c,d}	Les corrélations, inverses, entre les niveaux de BPA et la concentration et le nombre total de spermatozoïdes étaient, statistiquement, significatives.	[262]
Dosage sérique / étude des paramètres la reproduction	Transversale	33	Travailleurs dans les usines de production de résine époxy	64,4 ^e	Aucune association entre les taux sériques de BPA et les taux d'hormones sexuelles n'a été notée.	[291]

N : échantillonnage ; a : g/L, BPA urinaire non ajusté ; b : moyenne géométrique ; c : µg/g, BPA urinaire ajusté pour la créatinine ; d : médiane ; e : µg/L, BPA sérique ; f : µmol/mol de créatinine ; * : µg/L, BPA sérique/éther diglycidyle de bisphénol (Précurseur du BPA *in vivo*). BPA : bisphénol A ; TT3 : triiodothyronine totale; TT4: thyroxine totale ; HBG: globuline de liaison aux hormones ; BADGE : éther diglycidyle de bisphénol

Les études décrites dans le tableau précédent montrent que les niveaux d'exposition dans la population générale étaient, considérablement, inférieurs à ceux des travailleurs exposés. Cet aspect doit être pris en considération, selon le pays dans lequel les études ont été effectuées, car certaines ont été faites dans des pays en développement (exemple le Nigéria) ou dans des pays où la réglementation sur la protection des travailleurs des produits chimiques a des normes inférieures par rapport aux pays occidentaux (exemple la Chine).

La possibilité d'étudier, uniquement, les liens entre l'exposition au BPA et la présence de diabète ou l'obésité est absente de la recherche en médecine du travail. Le rôle du médecin du travail a évolué au fil des ans, passant de la prévention des risques professionnels et surveillance de la santé, à la promotion de la santé en général, intégrant ainsi le concept de « bien-être » de la manière la plus large possible.

Dans cette perspective, les considérations concernant les habitudes nocives telles que le tabac ou les mauvaises habitudes alimentaires sont devenues des tâches supplémentaires, introduites dans la médecine du travail par la loi qui pourraient être intégrées à l'évaluation des risques du BPA, et aussi évaluer les causes, très différentes, et souvent concurrentes des maladies métaboliques, en commençant par les prédispositions génétiques, les habitudes alimentaires et de vie. En relation avec ces données, il est nécessaire que les médecins du travail définissent les protocoles de surveillance de la santé au travail lors d'une exposition au BPA.

PARTIE PRATIQUE

***S-PARTIE 1/ ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE : EXPOSITION
PROFESSIONNELLE AU BISPHENOL A***

Objectifs

L'exposition de la population générale, principalement, par voie orale, est, largement, documentée. Dans un contexte professionnel, les sources d'exposition, par inhalation et par voie cutanée, ne doivent pas être sous-estimées.

Ces dernières années, l'attention s'est focalisée sur les expositions des agents de caisses, lors de la manipulation de papier thermique. Les études ont mis en évidence une exposition au BPA ; ce qui a conduit à une restriction de l'utilisation de BPA dans le papier thermique. Pour les autres usages du BPA, les données d'exposition sont, encore, limitées.

L'objectif de notre étude est double : connaître le niveau d'exposition au bisphénol A (teneurs urinaires), chez des travailleurs de l'industrie des matières plastiques et rechercher un éventuel impact sur leur fertilité, à travers l'analyse des paramètres hormonaux (FSH, LH, testostérone) et des caractéristiques de fertilité (nombre d'enfants, vie sexuelle...). L'exploitation des données d'une fiche de renseignement, recueillie auprès de chaque travailleur, vise à estimer l'impact éventuel de l'exposition sur la survenue d'autres perturbations objectivées par le bilan biologique (bisphénol A urinaire et bilan biochimique).

CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES

I.1. Protocole de l'étude épidémiologique

L'étude a été validée par le comité scientifique du département de Pharmacie de Constantine, attestant du respect des principes d'éthique en recherche médicale sur l'humain (**annexe 1**).

I.1.1. Population à étudier

Il s'agit d'une étude transversale à trait rétrospectif, sur des sujets exposés et non exposés.

Les sujets exposés sont représentés par les travailleurs d'une usine, située dans la zone industrielle de Didouche Mourad, commune de Hamma Bouziane, à 19 Km, au nord de Constantine. Cette usine a pour activité la transformation de la résine thermoplastique en matière plastique finale de type PVC (polychlorure de vinyle) et PC (polycarbonate).

L'étude a ciblé l'ensemble des travailleurs soit 180 sujets, âgés de 20 à 60 ans. Ces sujets occupent différents postes, d'exposition variable, à savoir :

- 1 - Préparation de la résine (homogénéisation, compoundage, séchage et mélange).
- 2 - Ramollissement de la résine, à la chaleur et à la pression. Le moulage, par injection, est la méthode employée pour donner à la résine, la forme souhaitée, en fonction des produits à fabriquer.
- 3 - Finissage et façonnage : Enlever l'excédent de plastique (découper, poncer le produit plastique). Décoration et opération de peinture du produit final.
- 4 - Emballage des matières plastiques.
- 5 - Opérations de purge et de nettoyage (retirer les résines usagées pour préparer une nouvelle fabrication).
- 6 - Agents administratifs, agents de sécurité et électriciens.

La population non exposée, de statut socio-économique comparable, concerne des hommes âgés de 20 à 60 ans. Il s'agit de sujets, à priori, non professionnellement exposés au BPA, employés dans une entreprise située dans la même zone industrielle. L'entreprise a pour activité la production de denrées alimentaires.

I.1.2. Critères de sélection

Critères d'inclusion :

- Sujets de sexe masculin.
- Sujets âgés de 20 à 60 ans.
- Sujets consentant au recueil des prélèvements biologiques.
- Travailleurs permanents.

Critères d'exclusion :

- Sujets ayant des antécédents médicaux de type congénital (diabète de type 1, hypogonadisme hypogonadotrophique congénital, insuffisances hypothalamiques ou hypophysaires organiques).
- Sujets réfractaires aux prélèvements de matrices biologiques.
- Travailleurs intermittents.

I.1.3. Paramètres à étudier

• Urinaires : dosage du bisphénol A total (libre et conjugué) et de la créatinine. La concentration de BPA urinaire est rapportée à la créatinine (Section 1.4.4. Préparation des urines pour le dosage des bisphénols)

• Sanguins :

- Hormones : Dosage sérique de la LH, la FSH et la testostérone.
- Bilan biochimique : glycémie, bilan hépatique (transaminases), bilan rénal (créatinine), bilan lipidique (triglycérides, cholestérol).
- Bilan hémobiochimique : formule et numération sanguine.

• Spermatiques (volume, concentration, vitalité et morphologie).

I.1.4. Fiche de renseignements (annexe 2)

Une fiche de renseignements médicaux et professionnels a accompagné les prélèvements. Elle comportait des informations relatives au sujet et à son activité professionnelle, éventuellement, aux moyens de protection, ainsi qu'au prélèvement et au transport de l'échantillon.

Il a été précisé le «time line » de tous les sujets recrutés, détaillant, ainsi, les fonctions antérieures et actuelles des sujets, leur ancienneté professionnelle ainsi que les antécédents médicaux et habitudes sociales.

La fiche a, également, rapporté toute information utile, relative au mode de vie telle que les particularités de la vie sexuelle (infertilité, troubles de libido) mais aussi à d'éventuels facteurs de confusion : tabac, alcool, médicaments, exposition à d'autres substances chimiques, IMC (rapport du poids (exprimé en Kg) sur le carré de la taille (exprimée en mètre))

La fiche de renseignement a été renseignée après un entretien, face à face, avec le travailleur et après information de l'ensemble du personnel de l'objectif de l'étude.

Le travail a été réalisé avec la collaboration de l'équipe de Médecine du travail de l'EPSP Didouche Mourad à Constantine.

La période de collecte des données et des prélèvements s'est étalée de Mars à Septembre 2019.

I.1.5. Modalités de prélèvement

- Prélèvement des urines, destiné au dosage du BPA et de la créatinine : sur tube en polypropylène (10 mL) ; urine congelée à -20 ° C.
- Prélèvement sanguin, destiné au dosage des hormones : réalisé sur tube hépariné (5 mL) et centrifugé ; sérum congelé à -20 ° C.
- Prélèvement sanguin destiné au bilan biochimique : réalisé sur tube hépariné (5 mL) et centrifugé ; sérum congelé à -20 ° C.
- Prélèvement sanguin pour la FNS : sur tube EDTA (5 mL).
- Prélèvement spermatique : réalisé sur un pot stérile, analysé dans l'heure qui suit le prélèvement.

I.1.6. Techniques de dosage des paramètres biologiques et toxicologiques

- Bisphénol A : par chromatographie GC-SM. Nous avons élargi la mise au point et la validation analytique à sept autres bisphénols, à l'Université des sciences pharmaceutiques au Portugal.
- Paramètres biochimiques (glycémie, transaminases, TG, cholestérol) : sur analyseur de biochimie, au laboratoire de biochimie du Centre Hospitalo-Universitaire Benbadis (Constantine, Algérie).
- Taux sériques de FSH, LH et de testostérone : par immunoturbidimétrie
- Formule et numération sanguine : sur analyseur d'hématologie cellulaire, au laboratoire d'analyses médicales du Dr Oubira à Constantine.
- Analyse spermatique : par examen microscopique, sur grille d'analyse.

I.1.7. Réactifs

- Standards, Sigma (West Chester, PA, USA) :
 - Bisphénol A (BPA ; pureté 99 %)
 - Bisphénol B (BPB ; pureté > 98 %)
 - Bisphénol E (BPE ; pureté 98 %)
 - Bisphénol F (BPF ; pureté 98 %)
 - Bisphénol AF (BPAF (pureté 98 %)
 - Bisphénol AP (BPAP (99 %)
 - Bisphénol Z (BPZ ; pureté 99 %)
 - Bisphénol A d₁₆ (BPAd₁₆, 98 %) : étalon interne (EI)
- Anhydride acétique (AA ; pureté > 99%), Fluka® (Neu-Ulm, Allemagne).
- Carbonate de potassium (K₂CO₃) et acétate d'ammonium (CH₃COONH₄) de qualité analytique, Merck® (Darmstadt, Allemagne).
- Acide acétique glacial de qualité analytique, Panreac® (Barcelone, Espagne).

- Solvants dispersifs : acétonitrile (MeCN), acétone (AC) et méthanol (MeOH), de haute qualité analytique, Fluka® (Neu-Ulm, Allemagne).
- Solvants d'extraction : tétrachloroéthylène (T4CE), chlorobenzène (CB), tétrachlorure de carbone (CTC), chloroforme (CL₃) et 1, 1,1 - trichloroéthane (T3CEA), de haute qualité analytique, Sigma® (West Chester, PA, USA).
- Hélium ultra - haute pureté (99,999 %) pour GC-MS, Gasin® (Maia, Portugal).
- Enzyme glucuronidase (type 1 de *Helix pomatia*, $\geq 3000,000$ U/gramme de matière solide glucuronidase et $\geq 10,000$ U/gramme de matière solide sulfatase solide) Sigma® (West Chester, PA, USA).

I.1.8. Matériel consommable

- Bandelettes test de pH (0-14), Sigma® (West Chester, PA, USA).
- Tubes coniques de 15 mL en verre et en plastique (propylène), TPP-Techno Plastic Products® (Trasadingen, Suisse).
- Pipettes Eppendorf (5000 μ L, 1000 μ L, 200 μ L, 100 μ L) et embouts, Sigma® (West Chester, PA, USA).
- Vials en verre de 2 mL, Thermo Scientific®

I.1.9. Appareillage

- Centrifugeuse Megafuge 16 HERAUS Thermo scientific® référence AAGV123
- Bain marie à agitation, GFL-modèle 1083 avec réglage de température par microprocesseur, Dutscher®.
- Analyseur de biochimie ADVIA 1800, Siemens®, (Erlangen, Allemagne).
- Analyseur ARCHITECT c4000 ; Abbott®, (Illinois, USA) (immunoturbidimétrie).
- Analyseur d'hématologie cellulaire ADVIA® 2120i avec Autoslide, basé sur la diffraction optique de la lumière à deux angles.
- **Chromatographie en phase gazeuse 6890 (Agilent®, Little Falls, USA) à détecteur de masse, en mode heart-cutting et injecteur en série, 7683B (Figure 33) :**
Colonne primaire, 5 m \times 0,32 mm ID \times 0,10 μ m film DB-5HT et colonne secondaire, 20 m \times 0,18 mm ID \times 0,18 μ m film DB-5MS, (J &W Scientific®, Folsom, CA, USA)
Echantillonneur automatique en mode d'injection split/splitless, électroniquement contrôlée.
Détecteur sélectif de masse inerte quadrupole (5975 B, Agilent®) avec une chambre d'ionisation à impact électronique (IE).



Figure 33 : Chromatographie en phase gazeuse 6890 à détecteur de masse, GC-MS (Agilent®)

I.2. Dosage du bisphénol A et ses analogues par GC-MS

I.2.1. Préparation et stockage des solutions

- Les solutions mères individuelles de BPA et les autres analogues ainsi que l'étalon interne (**20 mg/L**) ont été préparées dans du MeOH.
Prise d'essai : 0,2 mg de chaque bisphénol.....dans 10 mL de MeOH
- Les solutions filles individuelles de BPA et autres analogues (**1 mg/L**) ont été préparées dans une solution, à 0,5 %, de carbonate de potassium (5 g de K_2CO_3 dans 100 mL d'eau distillée).
Prise : 1mL de solution mère (20 mg/L)ajuster à 20 mL avec K_2CO_3 à 0,5%
- Les solutions filles collectives des neuf molécules (**10 µg/L**) ont été préparées dans une solution, à 0,5 %, de carbonate de potassium.
Prise : 100 µL de chaque solution fille (1 mg/L)ajuster à 10 mL avec K_2CO_3 à 0,5%
= **Solution A**
A partir de la solution A ont été constitués les points de calibration.
- La solution de BPA_{d16} (**1 mg/L**) a été préparée dans une solution, à 0,5 %, de carbonate de potassium, à partir de la solution mère de 20 mg/L (dans du MeOH).

Toutes les solutions sont stockées à - 28° C, lorsqu'elles ne sont pas en cours d'utilisation.

1.2.2. Conditions opératoires de l'équipement GC-MS

La GC heart-cutting a été réalisée en utilisant un dispositif de commutation Deans (Agilent, G2855B), comprenant un module de commande pneumatique séparé (PCM), fixé à l'orifice d'entrée de pression auxiliaire, une électrovanne et un module d'écoulement capillaire, placé à l'intérieur du four GC (**figure 34**).

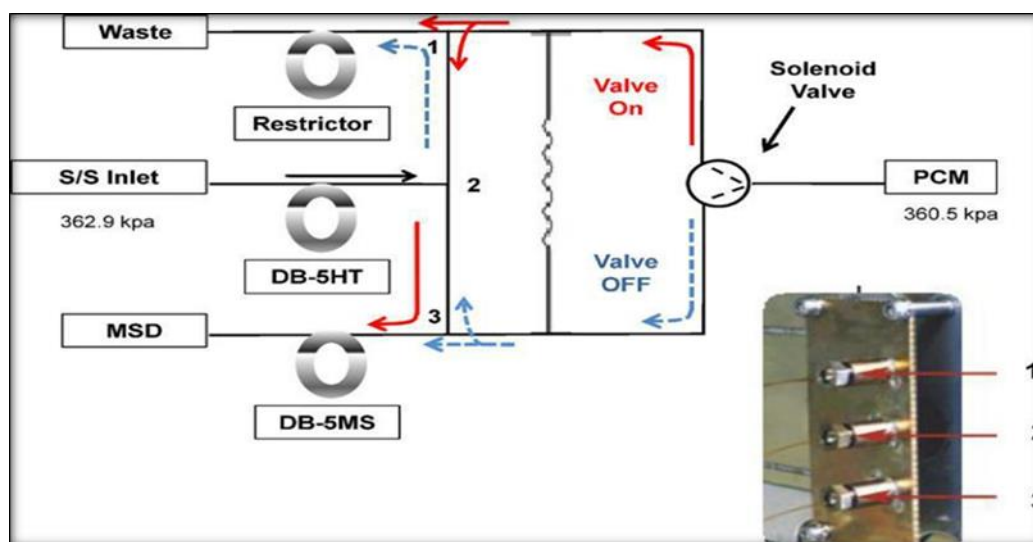


Figure 34 : Schéma explicatif du commutateur Deans système GC-MS utilisé.

Si l'électrovanne est en position d'arrêt, l'effluent de la colonne primaire circule vers les déchets ; en position « On », l'effluent passe dans la colonne de séparation GC à la détection MS.

La pression d'entrée, en relation directe avec la colonne primaire, a été réglée à une valeur constante de 362,9 kPa ; l'orifice d'entrée auxiliaire, directement reliée au dispositif commutateur Deans, délivrait de l'hélium, à une pression constante de 360,5 kPa. L'injection a été effectuée, en mode splitless (0,5 min), à 280 °C.

L'électrovanne Deans a, d'abord, été mise hors tension, puis mise en mode « On », à 5,5 minutes du début de l'injection, pour faire passer tous les analytes d'intérêt au détecteur de masse.

Le programme de température du four est comme suit : température de 140 °C, maintenue, pendant 1 min, puis 260 °C, maintenue, pendant 6 min, puis abaissée à 40 °C. Le temps total de l'injection était de 13 min. La ligne de transfert MS a eu lieu à 280 °C.

Les paramètres de spectrométrie de masse ont été fixés comme suit : l'ionisation par impact électronique avec une énergie de 70 eV ; la température de la source d'ions à 230 °C, la température de la MS quadripolaire à 150 °C ; le système MS, a été réglé,

systématiquement, en mode SIM (Selective Ion Monitoring) et chaque analyte a été quantifié sur la base de l'aire du pic, en utilisant un ion d'identification et deux ions de quantification.

Les paramètres complets SIM et les temps de rétention des analytes sont présentés dans le tableau 19. Le logiciel Agilent Chemstation a été utilisé pour la collecte et le traitement des données.

Tableau 19 : Temps de rétention des huit bisphénols et du BPA d₁₆

Analyte	t _R (min)	Ions (m/z)				
		Quantification		Qualification		
BPAF	7,38	267	420	336	359	197
BPF	8,12	200	284	242	152	107
BPE	8,31	199	256	298	214	241
BPA_{d16}	8,46	224	242	284	266	326
BPA	8,52	213	228	255	270	312
BPB	8,98	213	255	297	281	326
BPS	10,32	250	334	292	141	186
BPZ	11,56	268	352	310	225	251
BPAP	12,69	275	317	312	359	374

I.2.3. Optimisation des conditions d'extraction et de dérivatisation

Afin de réaliser les tests de dérivatisation, les acétates de bisphénol ont été synthétisés, selon la technique décrite par Vogel *et al.* [292]. En résumé, 0,01 mole de chaque composé, a été dissoute dans 5 mL de solution d'hydroxyde de sodium à 3 M ; on ajoute 10 à 20 g de glace pilée puis 1,5 mL d'anhydride acétique. Suit, une agitation vigoureuse du mélange, pendant 1 min.

Les dérivés acétylés ont été recueillis et recristallisés dans de l'eau chaude. L'identification des dérivés acétylés a été confirmée par GC-MS ; la pureté a été testée par le spectre infrarouge et le point de fusion. La pureté était de 98 % pour BPA et 85 % pour BPB.

I.2.3.1. Hydrolyse des conjugués

Telle que rapportée dans la littérature, la majorité des bisphénols ingérés sont excrétés dans l'urine, sous forme de conjugués glucuronides (et sulfates), tandis qu'une petite quantité est excrétée, sous forme libre [293]. Dans notre étude, les concentrations de bisphénols ont été déterminées avant (analytes libres) et après (total : analytes libres + conjugués) l'hydrolyse des conjugués glucuronides et esters de sulfate, par les glucuronidase et sulfatase.

Parmi les bêta glucuronidases et les préparations d'enzymes sulfatases (foie de bœuf, *Escherichia coli*, *Patella vulgata*, et *Helix pomatia*), disponibles sur le marché, l'enzyme Helix

type pomatia 1 a été choisi. L'enzyme a montré une bonne performance et une excellente stabilité, en présence d'un tampon d'acétate (pH 5,0) : plus de 2 mois, à - 28 °C. Sur la base de plusieurs études publiées, la quantité d'enzyme, pour hydrolyser les bisphénols, a été définie comme étant 0,4 U par mL d'échantillon, correspondant à 2000 U dans 5 mL d'échantillon d'urine.

Le temps et la température d'hydrolyse enzymatique des conjugués, dans l'urine humaine ont été testés. A cet effet, différents aliquots du même échantillon ont été dopés avec des quantités connues d'une solution de travail, pour obtenir des concentrations de 5 µg/L des différents bisphénols. Chacun de ces aliquots a été ajouté à 0,1 mL de solution de béta glucuronidase (20.000 U/mL dans du tampon molaire, 1 M d'acétate ammonium à pH=5,0) ; l'incubation a duré, ensuite et selon le cas, 2, 3, 6 h ou toute une nuit à 37°C et 1,5 h à 50°C.

L'échantillon a, ensuite, été soumis à la procédure d'extraction. Les résultats d'analyse montrent que l'aire sous la courbe des bisphénols est, directement, proportionnelle au temps d'hydrolyse. Les conditions de temps et de température, retenues, pour l'hydrolyse enzymatique, étaient d'une **nuit, à 37 °C**.

1.2.3.2. Volume et temps de réaction du réactif de dérivatisation

De nombreuses variables influent sur la performance de l'extraction liquide-liquide, à savoir la nature et le volume des solvants d'extraction et dispersifs ainsi que le volume du réactif de dérivatisation (anhydride acétique). Dans notre schéma d'extraction, le choix du volume du réactif de dérivatisation a joué un rôle clé, compte tenu de son importance dans le rendement d'extraction finale. Pour optimiser cette variable, nous nous sommes inspiré des conditions d'extraction de BPA et de BPB, à partir de boissons gazeuses et du lait en poudre de lait pour nourrissons [294].

Nous avons, d'abord testé, un volume de 500 µL de MeCN, renfermant 50 µL de T4CE et 30 µL d'AA, dans un échantillon enrichi d'urine (pour atteindre une concentration finale de 20 µg/L en BPA et BPB). Nous avons, ensuite, procédé à la variation du volume d'AA, de 30 à 150 µL. Le rendement maximal de la dérivatisation a été obtenu avec 125 µL d'AA (Figure 35). Ce volume d'AA a, en outre, été évalué dans les échantillons d'urine hydrolysée, montrant, également, de bons rendements.

Ces résultats sont conformes à ceux de la littérature concernant l'acétylation, à l'anhydride acétique, des analytes d'échantillons aqueux (temps court et grande efficacité) [282,294,295].

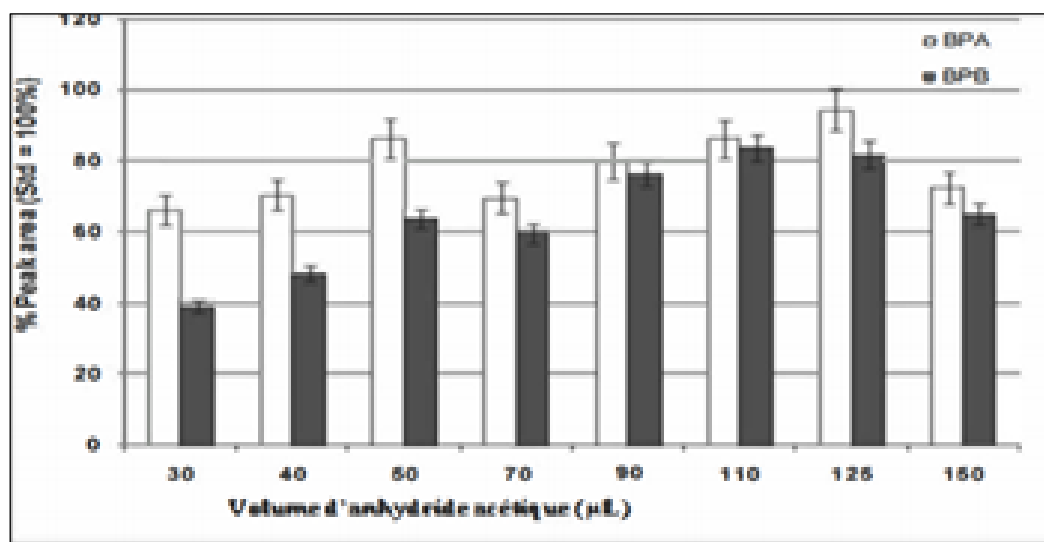


Figure 35 : Optimisation de la dérivation en fonction du volume de l'anhydride acétique.

I.2.3.3. Volume et nature des solvants dispersifs et des solvants d'extraction

L'extraction DLLME (Dispersive Liquid Liquid MicroExtraction) a été appliquée, avec succès, dans l'extraction, à la fois, du BPA et du BPB, dans les boissons gazeuses et les préparations, en poudre, pour nourrissons [294]. Compte tenu de la dissemblance entre les échantillons d'urine et les matrices précédemment étudiées, il a été décidé d'évaluer les différentes variables qui pourraient influencer l'efficacité de l'extraction.

Les performances des solvants d'extraction et des solvants dispersifs ont été évaluées simultanément.

Tous les solvants d'extraction sélectionnés sont non miscibles à l'eau et présentent une densité supérieure à l'eau, une bonne solubilité pour les analytes et un bon comportement chromatographique. Il s'agit du tétrachloroéthylène (T4CE), du chlorobenzène (CB), du tétrachlorure de carbone (CTC), du chloroforme (CL3), et du trichloroéthane (T3CEA).

Les solvants dispersifs sont miscibles, à la fois, aux solvants d'extraction et à l'échantillon aqueux ; ils ont la capacité de réduire la tension interfaciale du solvant d'extraction, ce qui réduit la taille des gouttelettes, et par, suite, augmenter le rendement d'extraction. Il s'agit de l'acétonitrile (MeCN), de l'acétone (AC) et du méthanol (MeOH).

Toutes les expériences ont été menées dans des échantillons d'urine dopés (pour atteindre 20 µg/L à la fois de BPA et de BPB). Pour obtenir le même volume de la phase sédimentée (40 µL), différents volumes de solvants d'extraction ont été utilisés, à savoir 50 µL de T4CE, de CB, de CTC, 70 µL de T3CEA et CL3 dans 0,5 mL de solvant de dispersion contenant 125 µL d'AA.

Il convient de noter que le type de solvant dispersif n'a révélé aucune différence dans la quantité de phase sédimentée recueillie. Les résultats, rapportés dans la figure 36 (A-C), montrent que la combinaison T4CE/ MeCN a donné le meilleur recouvrement du BPA alors que, pour le BPB, de meilleurs résultats ont été obtenus avec la paire CTC/ MeCN.

Nous avons retenu la combinaison **T4CE/ MeCN, optimale pour le BPA**, compte tenu de l'importance de la présence de ce dernier dans l'urine humaine, au regard de celle du BPB ; notons, par ailleurs, qu'il n'existe qu'une légère différence, dans les rendements d'extraction du BPB par CTC/ MeCN ou T4CE/ MeCN.

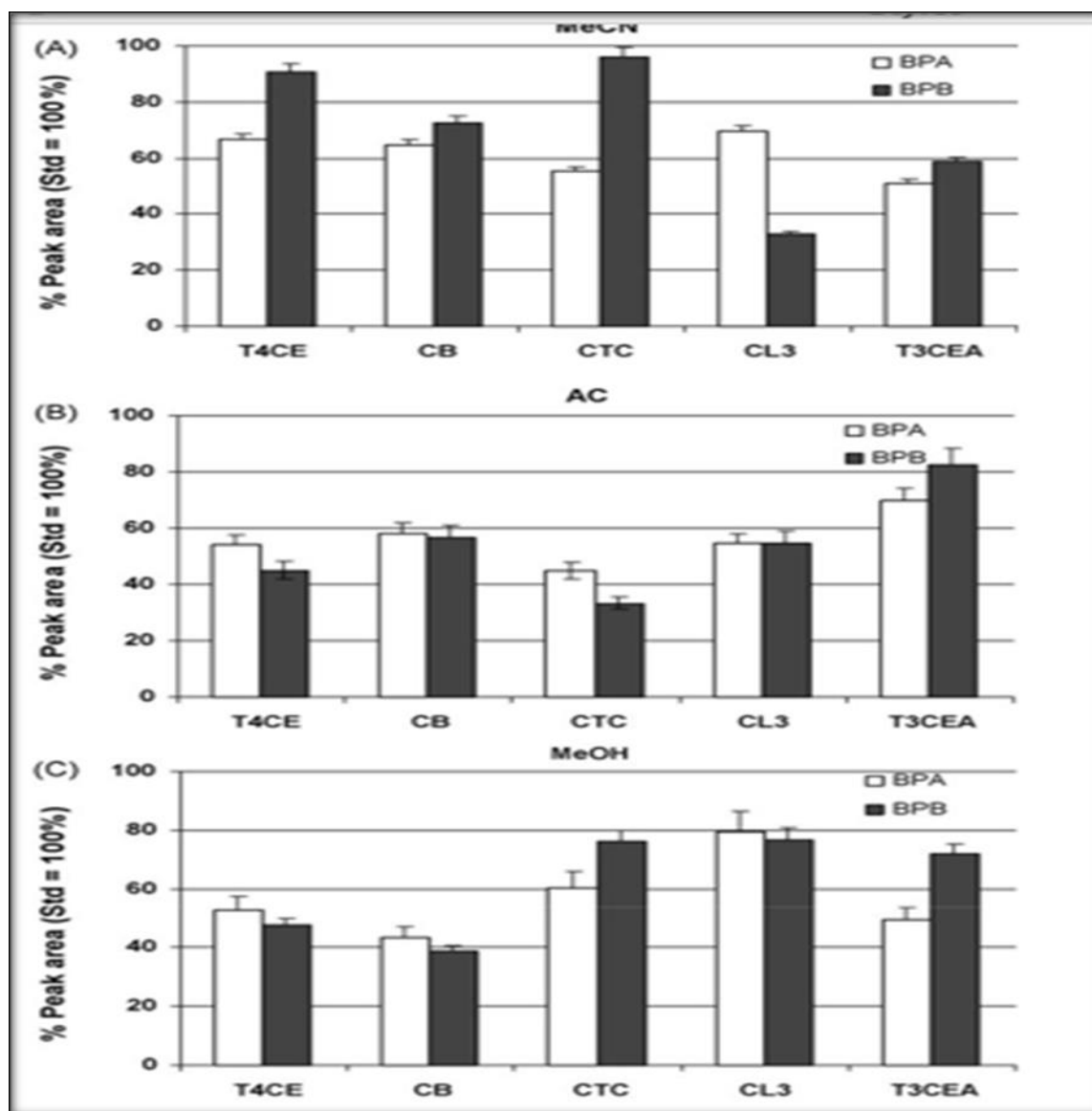


Figure 36 : Moyennes des pics de réponse selon les combinaisons « solvant dispersif/ solvant extractif (N=2).

Solvants dispersifs : (A) = MeCN ; (B) = AC ; (C) = MeOH

Solvants extractifs : T4CE, T3CE, CL3, CB, CTC.

En outre, la combinaison T4CE/MeCN a montré des chromatogrammes GC-MS full scan, «plus propres», en comparaison avec d'autres combinaisons (figure 37), ce qui indique, également, l'efficacité de cette paire dans la capacité à séparer ou à éliminer d'autres composants gênants de la matrice urinaire.

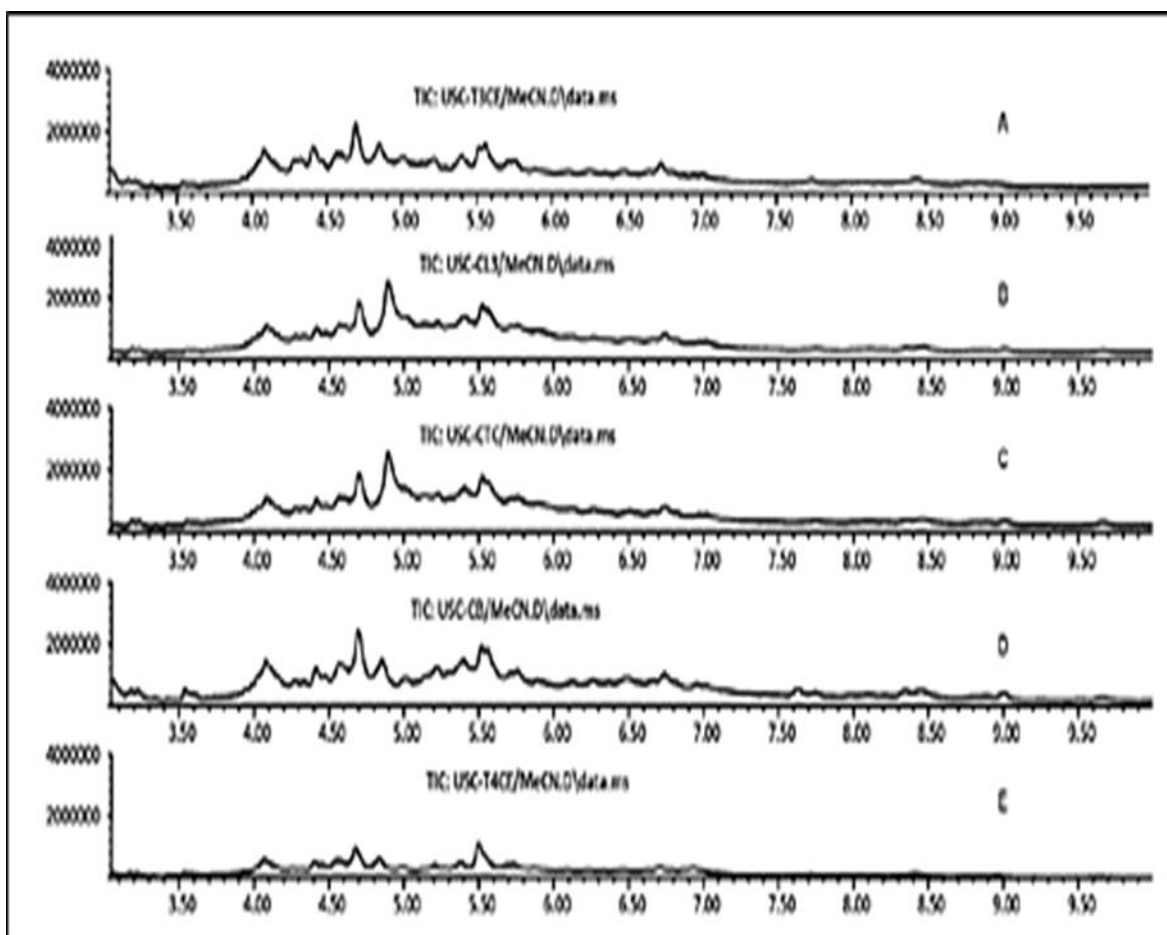


Figure 37 : DLLME / Chromatogrammes GC - MS (full scan) d'extraits d'urine avec différents solvants d'extraction : (A) T3CE/ MeCN, (B) CL3/ MeCN, (C) CTC/ MeCN, (D) CB/ MeCN, (E) T4CE/ MeCN.

L'étape suivante de l'optimisation de la procédure extractive était l'évaluation du volume de solvant d'extraction. Ont été étudiées plusieurs combinaisons (0,5 mL de MeCN/ Vol de T4CE) ; nous avons testé des volumes (Vol) de 30, 50, 70 et 100 μ L de T4CE. Nous avons évité de plus faibles volumes de T4CE, qui réduiraient le volume de la phase sédimentée, ce qui impacterait, ultérieurement, la reproductibilité.

L'accroissement du volume de T4CE, de 30 à 100 μL , correspondait à une augmentation du volume de la phase sédimentée, de 20 à 80 μL . Le volume de 30 μL de T4CE a fourni des pics plus élevés ainsi qu'un bon facteur d'enrichissement (EF).

Le facteur d'enrichissement correspond à $[\% \text{ de recouvrement} \times (\text{Vaq}/\text{Vsed})/100]$ où Vaq et Vsed représentent, respectivement, le volume de l'échantillon et le volume final de la phase sédimentée (figure 38).

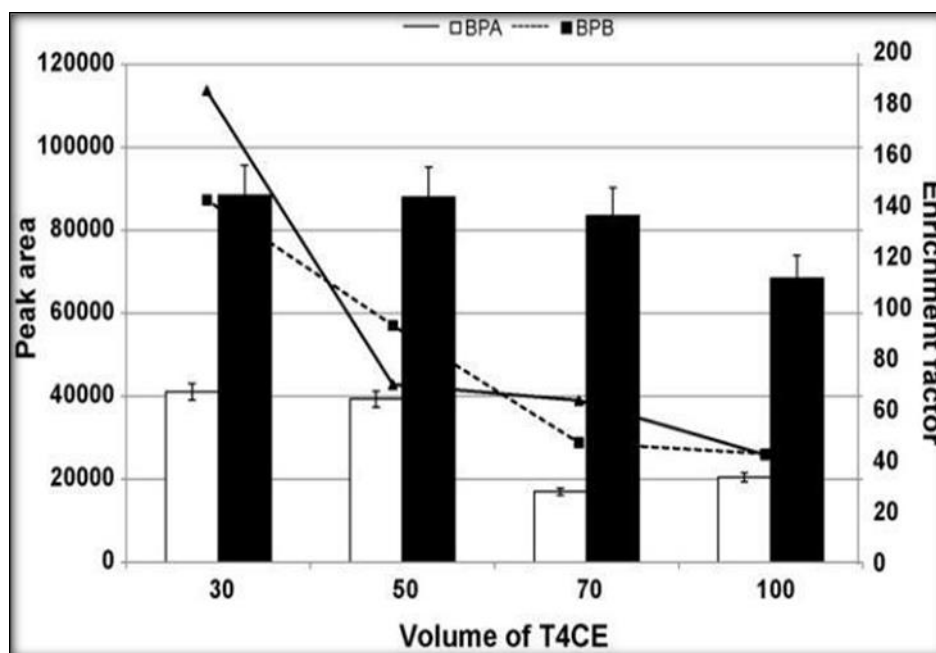


Figure 38 : Réponse (surface maximale) en fonction du volume de solvant d'extraction.

Toutefois, nous avons observé, dans certains échantillons d'urine, la présence d'une mince couche, à la surface de la phase sédimentée, ce qui rendait difficile le recueil d'un volume constant. Pour prévenir cette difficulté, nous avons, finalement, opté pour un volume de 50 μL de solvant d'extraction.

Pour étudier l'influence du volume de solvant de dispersion sur l'efficacité d'extraction, 50 μL de T4CE et 125 μL d'AA ont été placés, successivement, dans quatre volumes de MeCN : 0,5; 1; 1,5 et 2 mL. L'efficacité d'extraction a été, légèrement, améliorée avec l'augmentation du volume de solvant de dispersion.

Cependant, l'emploi du volume de 2 mL de solvant dispersif a entraîné une augmentation du volume de la phase sédimentée (55 μL), ce qui a entraîné la diminution de l'aire sous la courbe du pic. Nous avons, donc, retenu, **1,325 mL de MeCN** comme volume optimal du solvant dispersif.

NB : Les tests d'optimisation ont été réalisés pour le BPA et le BPB ; ces tests sont, largement, acceptables et applicables aux autres bisphénols comme le montre le full scan GC-MS des 8 bisphénols ciblés (figure 39).

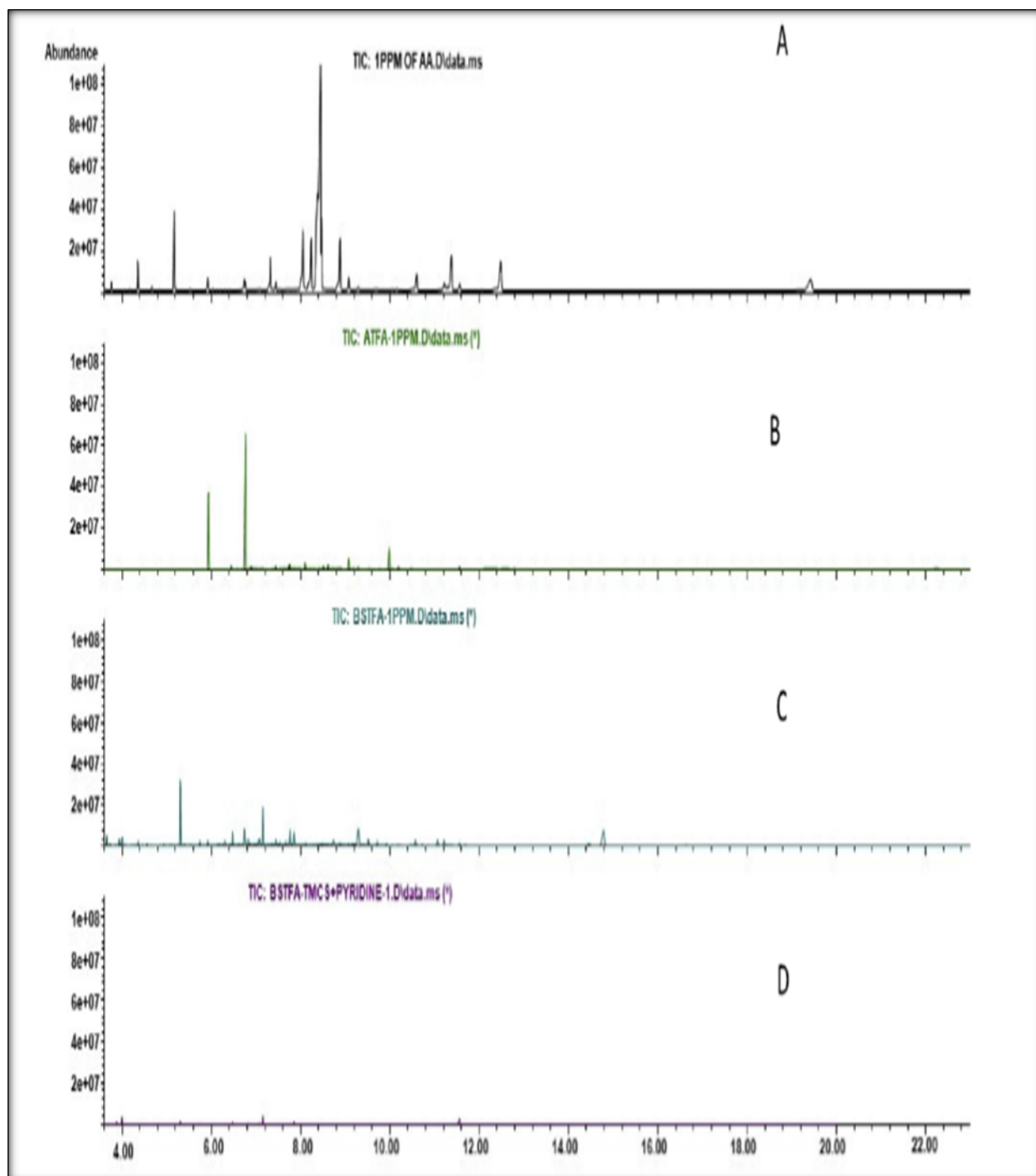


Figure 39 : Chromatogramme ionique total (TIC) des 8 bisphénols à 1 mg/L après utilisation de différents agents de dérivation

A) AA (anhydride acétique); B) TFA(Trifluoroacétamide); C) BSTFA (N, O Bis (triméthylsilyl) trifluoroacétamide); D) BSTFA-TMCS (triméthylchlorosilane)-pyridine.

I.2.3.4. Résumé des conditions d'extraction et de dérivatisation (tableau 20).**Tableau 20** : Résumé les conditions d'extraction et de dérivatisation.

<i>Paramètre</i>	<i>Conditions</i>
Solvant d'extraction	Tétrachloroéthylène
Volume du solvant d'extraction	50 µL
Solvants de dérivatisation	Anhydride acétique
Volume du solvant de dérivatisation	125 µL
Solvant de dispersion	Acétonitrile
Volume du solvant de dispersion	1325 µL
Température et temps de dé conjugaison	37°C pendant une nuit
Enzyme de dé conjugaison	Helix type pomatia (20.000 U/mL dans du tampon molaire, 1 M d'acétate ammonium à pH=5,0)

I.2.3.5. Étapes de préparation des échantillons urinaires destinés au dosage des bisphénol.**- Dosage des BP libres**

Les échantillons d'urine, congelés, sont ramenés à température ambiante et homogénéisés au vortex, avant extraction. L'échantillon est transféré dans un tube en verre, à fond conique ; on y ajoute 50 µL de BPAd₁₆ (étalon interne) ; Le pH de la solution est ajusté à pH > 10, à l'aide d'une solution de K₂CO₃ à 5 %. On adjoint, à 5 mL de l'échantillon traité, 1325 µL de MeCN, 50 µL de T4CE et 125 µL d'AA. Les tubes sont, ensuite, agités et centrifugés, pendant 2 min, à 5000 tr/min et à 4°C. Enfin, 40 µL de la phase inférieure sont transférés dans un insert de 100 µL ; suit l'injection de 1 µL dans le système chromatographique GC-MS (**figure 40**).

- Dosage des BP totaux (conjugués et libres)

Les échantillons d'urine sont décongelés (à température ambiante et agités au vortex). On place, dans un tube en verre, à fond conique, 5 mL d'échantillon auxquels, on ajoute 50 µL de BPAd₁₆ et 100 µL de solution de bêta glucuronidase (20 000 U/mL dans un tampon d'acétate d'ammonium 1 M, pH 5,0). L'hydrolyse enzymatique se poursuit, une nuit, à 37°C. Les échantillons sont, ensuite, extraits, comme décrit dans le paragraphe précédent (**Figure 41**).

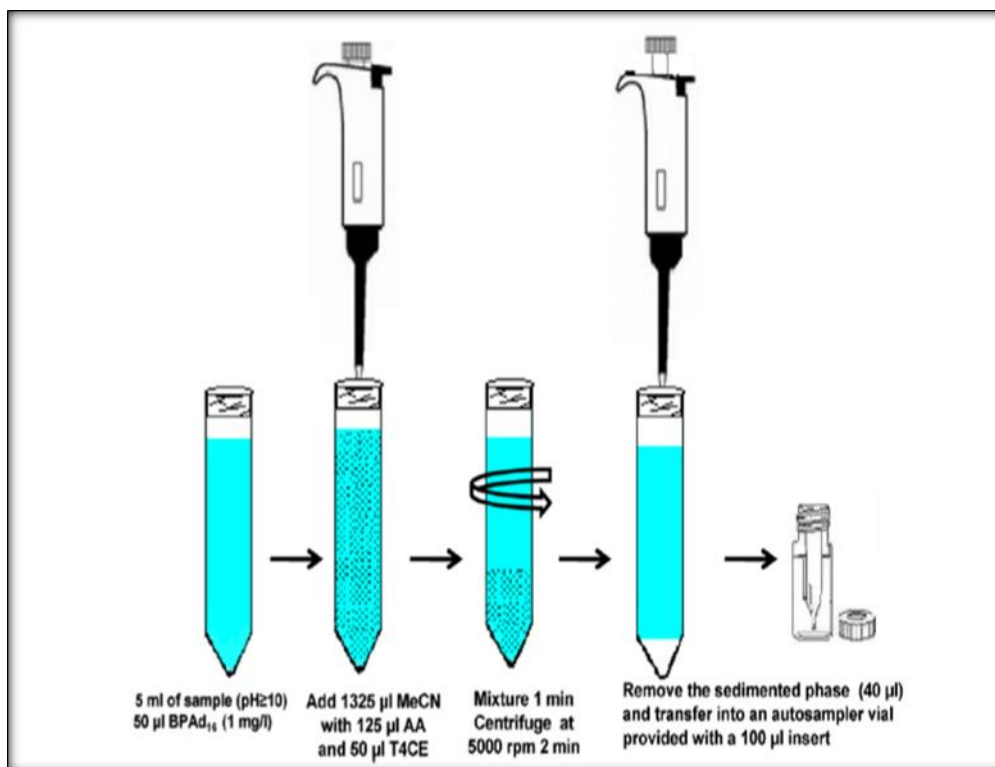


Figure 40 : Etapes de prétraitement des échantillons urinaires (DLLME)



Figure 41 : Dosage du BPA total. Préparation des échantillons urinaire par dé-conjugaison.

I.2.4. Optimisation des conditions chromatographiques

Durant la dernière décennie, sont apparues, un grand nombre de méthodes analytiques, axées sur la maximisation du débit d'injection et la diminution du temps d'analyse [296]. Parmi les diverses variétés de GC, les méthodes basées sur l'utilisation des systèmes multidimensionnels, intégrant plusieurs colonnes, se sont avérées très précieuses, en raison de la résolution de l'échantillon et l'amélioration du rendement.

Une vanne de commutation peut être utilisée pour le passage de l'effluent d'une colonne à l'autre, sous certaines conditions ; les colonnes peuvent être exploitées, indépendamment, pour augmenter le débit [297]. Une commande de commutation similaire peut être atteinte par un dispositif de commutation Deans, sur la base de l'équilibrage de la pression pneumatique.

Le recours au contrôle du flux du gaz porteur, au point d'injection et au point d'entrée de la colonne, permet aux fractions sélectionnées d'être déviées vers la seconde colonne :

- Au détecteur MS, en l'occurrence (trois fractions d'intérêt : dérivés acétylés du BPA, du BPB et du BPA_{d16})
- Ou, directement, aux déchets, via une colonne restrictive [294].

Pour parvenir à une bonne résolution des analytes d'intérêt, une courte et large DB-5 colonne capillaire (HTDB-5), avec une faible épaisseur de film ($5\text{ m} \times 0,32\text{ mm} \times 0,10\text{ }\mu\text{m}$), a été combinée à une seconde DB-5 colonne capillaire, plus étroite ($20\text{ m} \times 0,18\text{ mm} \times 0,18\text{ }\mu\text{m}$).

Cet ensemble de colonnes nécessite une colonne inerte de $2,0\text{ m} \times 0,10\text{ mm ID}$, en tant que colonne restrictive, en raccordement au dispositif de commutation Deans.

Pour obtenir une bonne séparation, le flux de gaz, dans la première colonne, a été fixé à 1 mL (362,9 kPa inlet) et à 2 mL dans la seconde colonne (360,5 kPa inlet), ainsi il était possible d'obtenir une bonne séparation des analytes, à partir de la matrice.

Dans cette étude, il a été décidé de ne pas faire de changement de programme, en raison de la proximité des pics. Ainsi, le commutateur Deans a été exploité, en mode «On», entre 5,5 et 8 min et, en mode «Off», au début et à la fin de l'essai chromatographique. Cet assemblage protège la seconde colonne et le détecteur MS de toutes les substances interférentes qui éluent avant et après les analytes d'intérêt, garantissant, ainsi, la fiabilité et la robustesse de l'ensemble du système GC-MS. Dans le tableau 21, sont résumées l'ensemble des conditions chromatographiques adoptées.

Pour obtenir la meilleure sélectivité et afin de maximiser la sensibilité dans la détection, la MS fonctionnait en mode Selective Ion Monitoring (SIM).

Dans cette étude, trois ions ont été sélectionnés pour chaque analyte, avec un temps de séjour de 30 ms. Ces conditions permettent la réalisation de 7-10 points de travers un pic, qui a permis d'accomplir les besoins quantitatifs [298]. La figure 42 montre le TIC d'un échantillon d'urine humaine, avec les chromatogrammes individuels du BPA, BPB, BPA d₁₆, en mode SIM.

Tableau 21 : Conditions chromatographiques et de détection SM

Paramètre	Particularité
Température du four (°C)	140, pendant 1min puis 260, pendant 6 min puis 40
Gaz vecteur	He, à pression de 362,9 KPa
Débit du gaz (psi)	9
Température de l'injecteur (°C)	280
Mode <i>Split</i> (mL /min)	0,5
Temps d'analyse (min)	13
Température de la source d'ionisation (°C)	230
Température de la MS quadrupole (°C)	150
Energie de l'ionisation	Ionisation à impact d'électron à 70 eV
Volume d'injection	1 µL

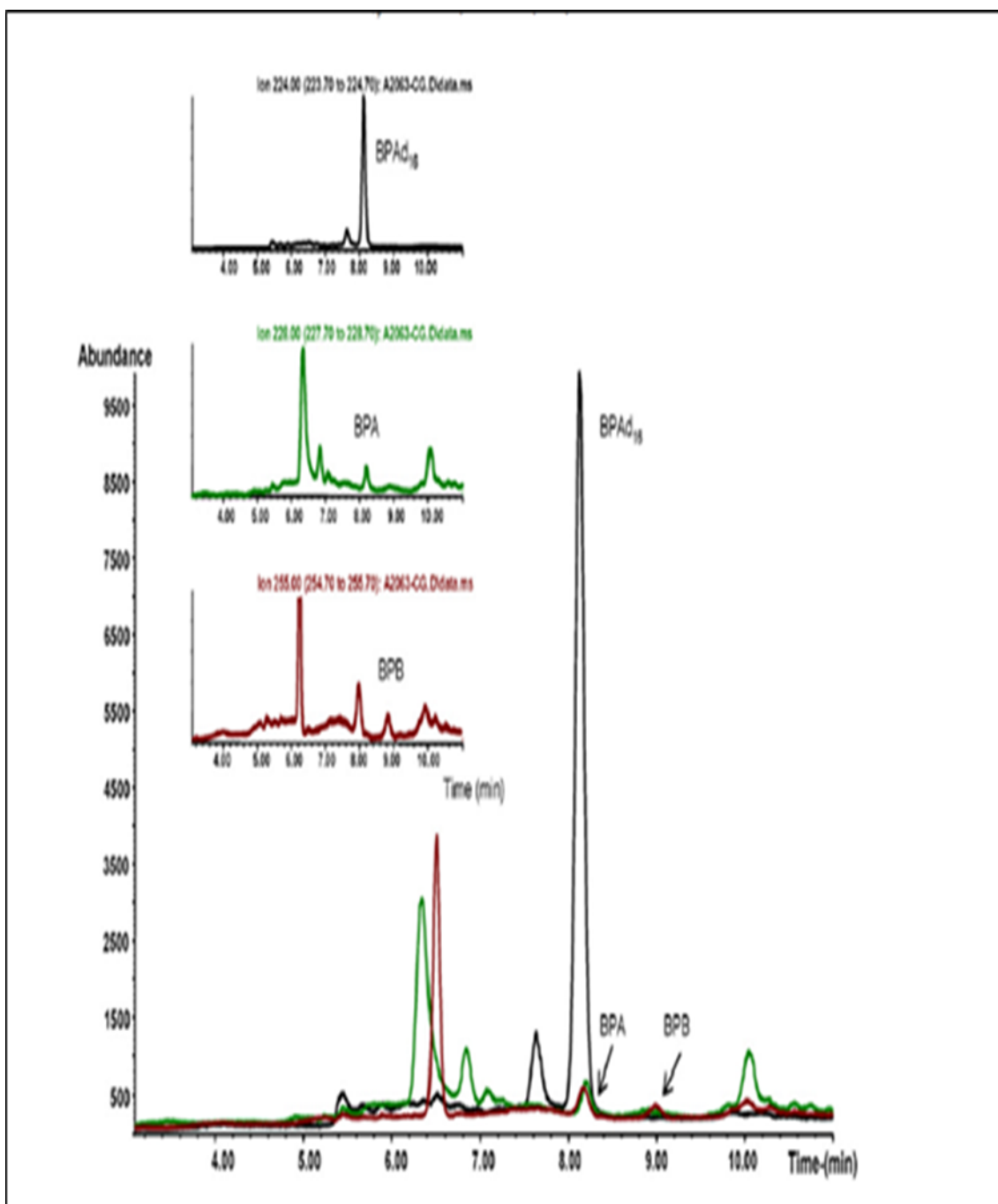


Figure 42 : Chromatogramme ionique total (TIC) d'un échantillon d'urine humaine N° 55.

I.2.5. Validation analytique du dosage du BPA et de ses analogues par GC-MS

Le protocole de validation a été adopté selon les lignes directives de la Commission européenne (European commission, 2017).

I.2.5.1. Linéarité

Dans cette étude, des étalonnages appariés à la matrice ont été utilisés, ce qui était possible grâce à la disponibilité d'un échantillon d'urine vierge. Il faut noter que les courbes d'étalonnage, dans des échantillons d'eau vierges, donnaient des pentes similaires.

Des échantillons d'urine humaine blanche, avec ou sans traitement par hydrolyse, sont enrichis de huit niveaux (**tableau 22**) de concentration, différents pour chaque analyte, soumis à la méthode d'extraction optimisée. Les courbes d'étalonnage ont été obtenues par la méthode des moindres carrés, en utilisant BPAd16 comme étalon interne. La méthode était linéaire avec des coefficients de corrélation $>0,99$ (**Figures 43 à 50**).

Tableau 22 : Calcul des concentrations de la courbe de calibration des huit bisphénols

Concentrations ($\mu\text{g/L}$)	0,1	0,2	0,5	1	2,5	5	7,5	10
Volume de solution A (mL) (10 $\mu\text{g/L}$ - 8 bisphénols)	0,1	0,2	0,5	1	2,5	5	7,5	-
Volume Sol. K_2CO_3 eau distillée (mL) (qsp 10 mL)	9,9	9,8	9,5	9	7,5	5	2,5	-

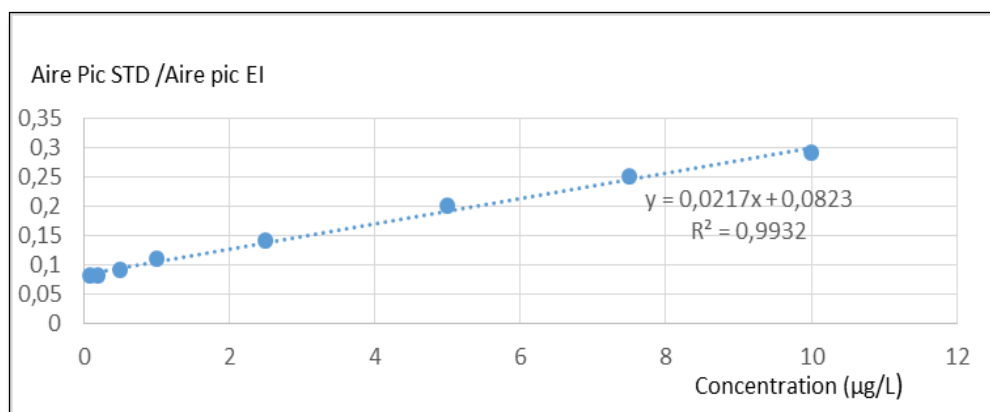


Figure 43 : Courbe de calibration du BPA

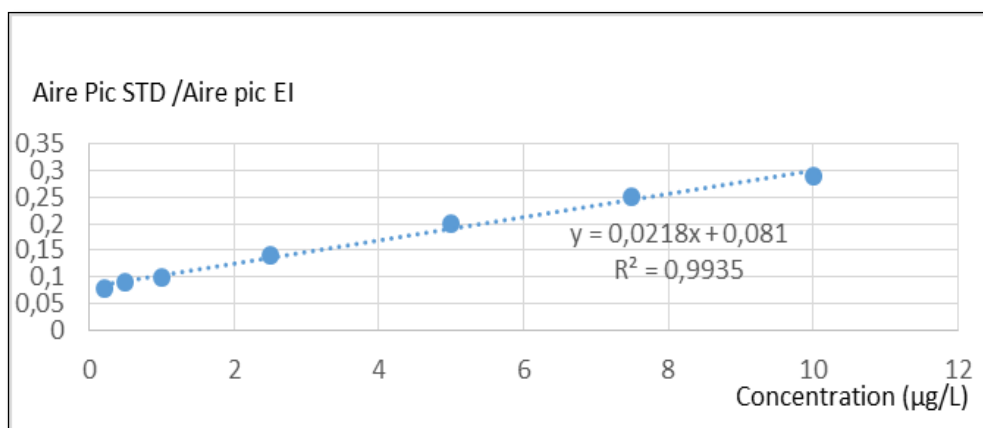


Figure 44 : Courbe de calibration du BPB

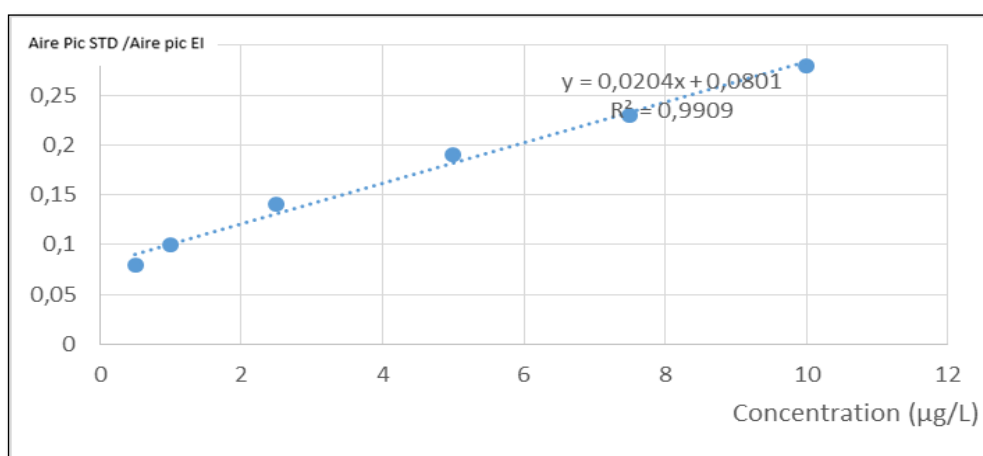


Figure 45: Courbe de calibration du BPS

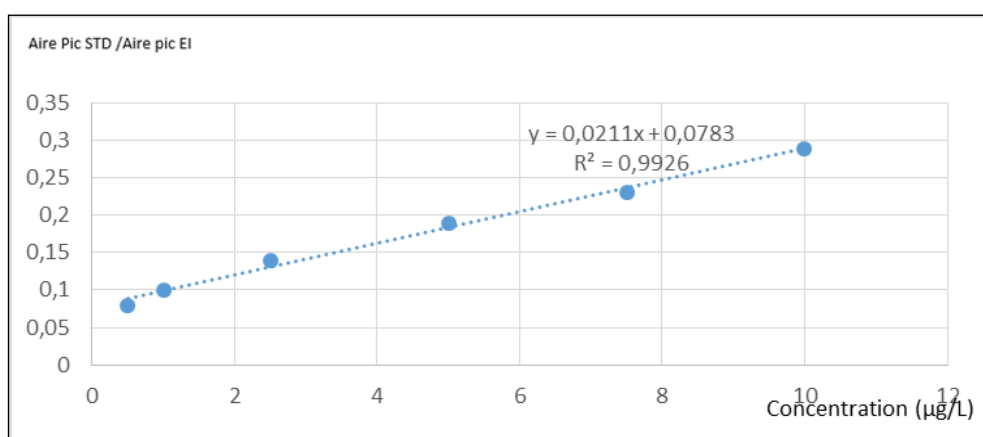


Figure 46 : Courbe de calibration du BPZ

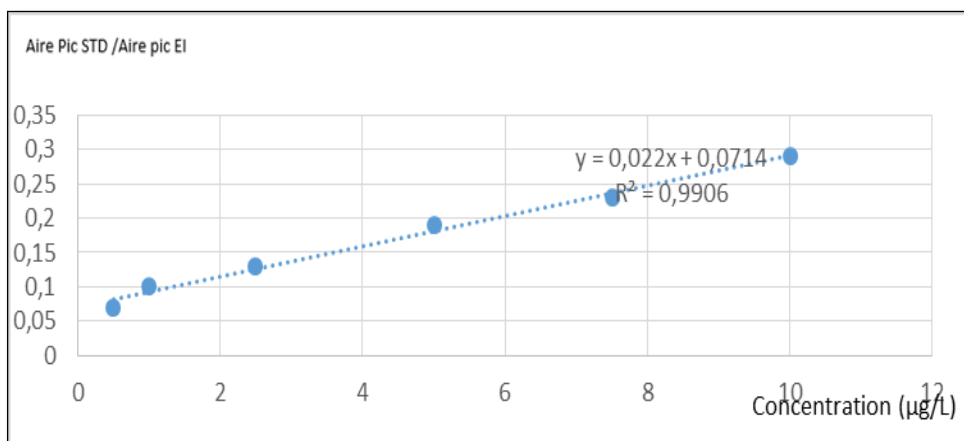


Figure 47 : Courbe de calibration du BPAP

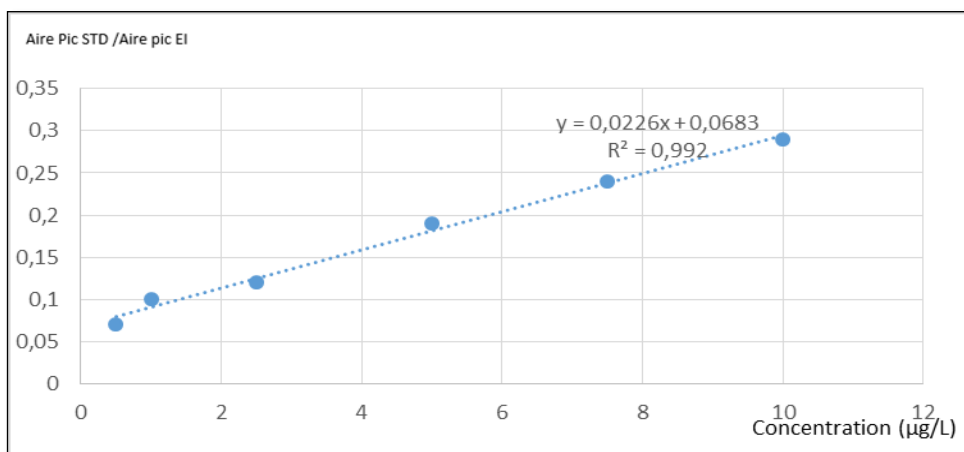


Figure 48 : Courbe de calibration du BPF

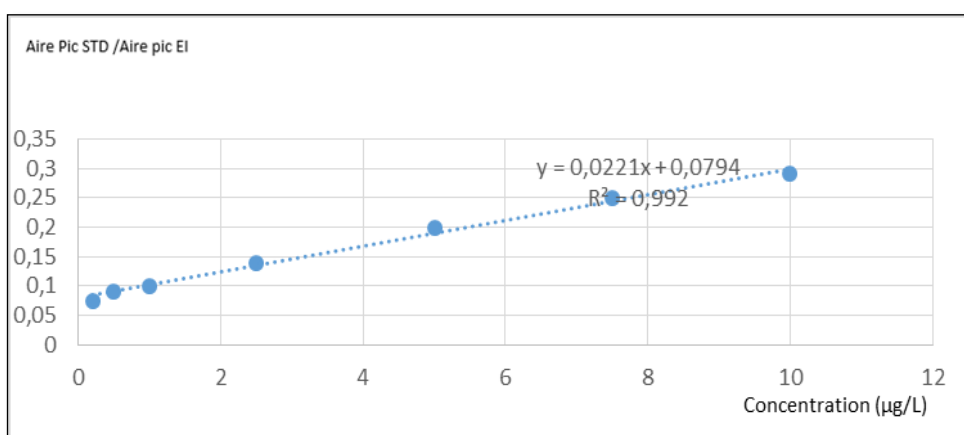


Figure 49 : Courbe de calibration du BPE

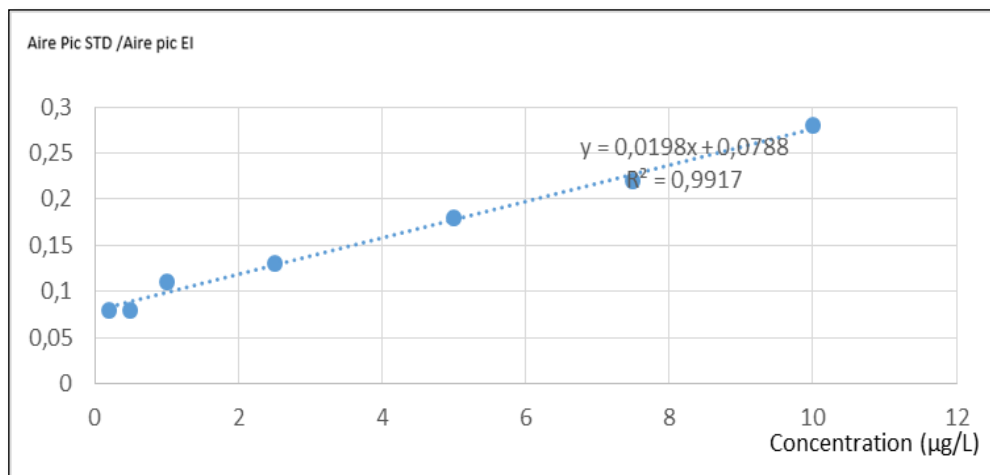


Figure 50 : Courbe de calibration du BPAF

I.2.5.2. Limite de détection (LD) et limite de quantification (LQ)

Le seuil de détection correspond à la plus petite quantité d'une substance à examiner dans un échantillon pouvant être détectée, mais non quantifiée.

Dans notre étude, la limite de détection de la méthode a été déterminée par analyses chromatographiques successives des extraits d'échantillons avec diminution progressive des concentrations de l'analyte, jusqu'à atteindre un rapport signal/ bruit de fond égal à 3 : Le bruit de fond est donné par le chromatogramme du blanc matrice, ne présentant pas de pics interférant au t_R des bisphénols (**Figure 51**).

Les valeurs de LD, les plus faibles, sont de **0,03 µg/L pour le BPA** et **0,05 µg/L pour le BPB**.

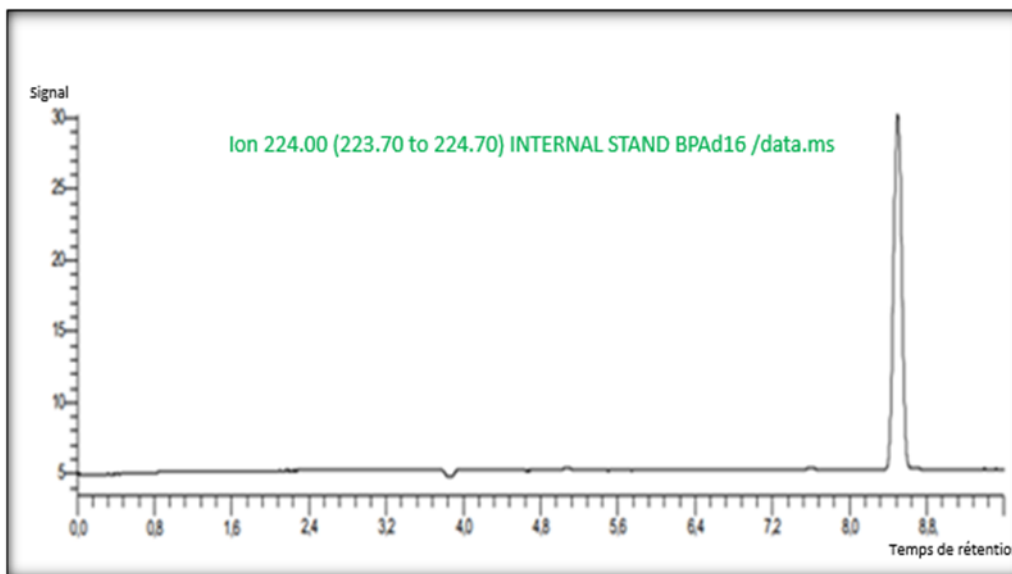


Figure 51 : Chromatogramme d'un blanc matrice ne contenant que l'étalon interne BPA d₁₆.

La limite de quantification (LQ) est la plus petite quantité de l'analyte dans un échantillon pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites avec une exactitude et précision acceptables. Elle peut être déterminée, par essais de répétabilité et de fidélité intermédiaire, sur des concentrations de plus en plus faibles.

Dans notre étude, il s'agit du premier point de la courbe d'étalonnage (**0,1 µg/L pour le BPA et 0,2 µg/L pour le BPB**, coefficient de variation < 20 %).

La limite de quantification du BPA (**0,1 µg/L**) est plus faible que celles, rapportées dans la littérature, pour ce type de matrice [215]. Le **tableau 23** résume les LD et LQ des huit bisphénols.

Tableau 23 : Limite de détection et de quantification des huit bisphénols

	<i>LD (µg/L)</i>	<i>LQ (µg/L)</i>
<i>BPA</i>	0,03	0,1
<i>BPB</i>	0,05	0,2
<i>BPS</i>	1,00	0,5
<i>BPZ</i>	0,10	0,5
<i>BPAP</i>	0,1	0,5
<i>BPF</i>	0,03	0,5
<i>BPE</i>	0,06	0,2
<i>BPAF</i>	0,03	0,2

I.2.5.3. Fidélité et justesse

La fidélité exprime l'étroitesse de l'accord entre une série de mesures provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène. La fidélité traduit, uniquement, la distribution des erreurs aléatoires et n'a aucune relation avec la valeur vraie ou spécifiée. On distingue la répétabilité (intra-séries) et la fidélité intermédiaire (inter-séries). La fidélité est exprimée par le coefficient de variation : $CV = (\text{Ecart type} / \text{Moyenne}) \times 100$.

La justesse exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne (M) obtenue à partir d'une série de résultats d'essais et une valeur acceptée, soit comme une valeur, conventionnellement, vraie, soit comme une valeur de référence (Vr). La mesure de la justesse est, généralement, exprimée en termes de recouvrement et de biais absolu (M - Vr) ou de biais relatif, encore appelé RSD (Relative Standard Deviation) = $[(M - Vr) / Vr] \times 100$.

La justesse fournit une indication sur les erreurs systématiques et la fidélité, sur les erreurs aléatoires. Justesse et fidélité constituent l'exactitude.

Le biais relatif (RSD) a été calculé, pour les huit bisphénols, à partir de l'analyse, cinq fois répétée, d'un échantillon d'urine humaine, enrichi, à trois niveaux de concentration (**0,5 ; 2,5 et 10 µg/L**), avant traitement enzymatique et extraction DLLME. Le coefficient de variation a été déterminé dans les mêmes conditions (**tableau 24**). Le profil d'exactitude est illustré dans la **figure 52**

Tableau 24 : Calcul de la répétabilité (CV) et de la justesse (% RSD), à 3 niveaux de concentration (0,5 ; 2,5 et 10 µg/L) des huit bisphénols.

Concentration (µg/L)	1	2	3	4	5	Moyenne (µg/L)	Ecart type	CV (%)	RSD (%)	
0,5	<i>BPA</i>	0,62	0,50	0,58	0,66	0,54	0,58	0,063	10,9	-16
	<i>BPB</i>	0,65	0,43	0,59	0,50	0,53	0,54	0,084	15,6	-8
	<i>BPS</i>	0,45	0,54	0,47	0,56	0,51	0,51	0,046	9	-2
	<i>BPZ</i>	0,52	0,56	0,54	0,50	0,48	0,52	0,032	6,2	-4
	<i>BPAP</i>	0,57	0,54	0,48	0,51	0,45	0,51	0,047	9,2	-2
	<i>BPF</i>	0,64	0,55	0,59	0,68	0,50	0,59	0,071	12	-18
	<i>BPE</i>	0,53	0,49	0,57	0,45	0,61	0,53	0,063	11,9	-6
	<i>BPAF</i>	0,62	0,64	0,57	0,59	0,54	0,59	0,04	6,8	-18
2,5	<i>BPA</i>	2,26	2,42	2,71	2,14	2,55	2,42	0,226	9,3	3,2
	<i>BPB</i>	2,25	1,96	2,06	2,17	2,11	2,11	0,11	5,2	15,6
	<i>BPS</i>	2,63	2,43	2,54	2,88	2,76	2,65	0,177	6,7	-6
	<i>BPZ</i>	2,10	2,21	2,15	2,26	2,31	2,21	0,084	3,8	11,6
	<i>BPAP</i>	2,31	2,17	2,97	2,75	2,53	2,55	0,324	12,7	-2
	<i>BPF</i>	2,40	2,62	2,29	2,51	2,73	2,51	0,174	6,9	-0,4
	<i>BPE</i>	2,42	2,60	2,86	2,78	2,23	2,58	0,258	10	-3,2
	<i>BPAF</i>	2,65	2,55	2,74	2,69	2,60	2,65	0,074	2,8	-6
10	<i>BPA</i>	12,12	10,07	8,02	8,97	11,05	10,05	1,626	16,2	-0,5
	<i>BPB</i>	12,23	11,35	10,58	8,87	9,64	10,53	1,333	12,7	-5,3
	<i>BPS</i>	10,31	10,35	10,19	10,26	10,29	10,28	0,06	0,6	-2,8
	<i>BPZ</i>	9,9	10,10	10,29	9,1	10,20	9,92	0,48	4,8	0,8
	<i>BPAP</i>	10,14	11,12	11,63	9,66	10,64	10,64	0,778	7,3	-6,4
	<i>BPF</i>	10,52	8,57	12,61	11,48	9,60	10,56	1,576	14,9	-5,6
	<i>BPE</i>	9,83	9,04	11,49	12,25	10,63	10,65	1,278	12	-6,5
	<i>BPAF</i>	11,87	12,65	11,09	9,29	11,81	11,34	1,273	11,2	-13,4

Les coefficients de variation varient de 0,6 à 16 % ; ils restent acceptables, aux concentrations basses, déterminées dans notre étude.

Les biais relatifs, varient de -18% à + 15,6% ; ils restent dans la limite tolérée de 20 %.

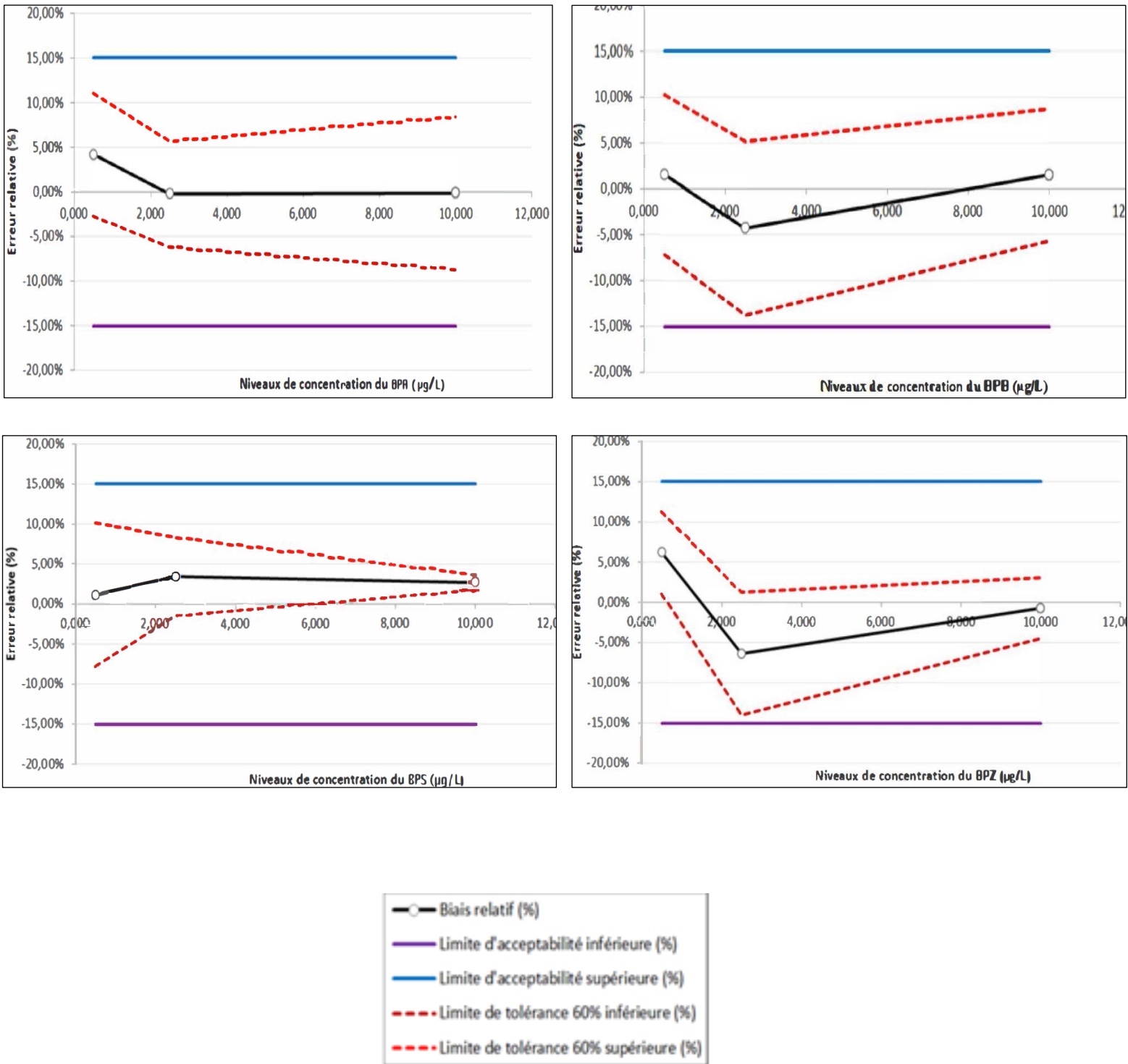


Figure 52 (a) : Profil d'exactitude .Dosage des bisphénols BPA, BPB, BPS, BPZ

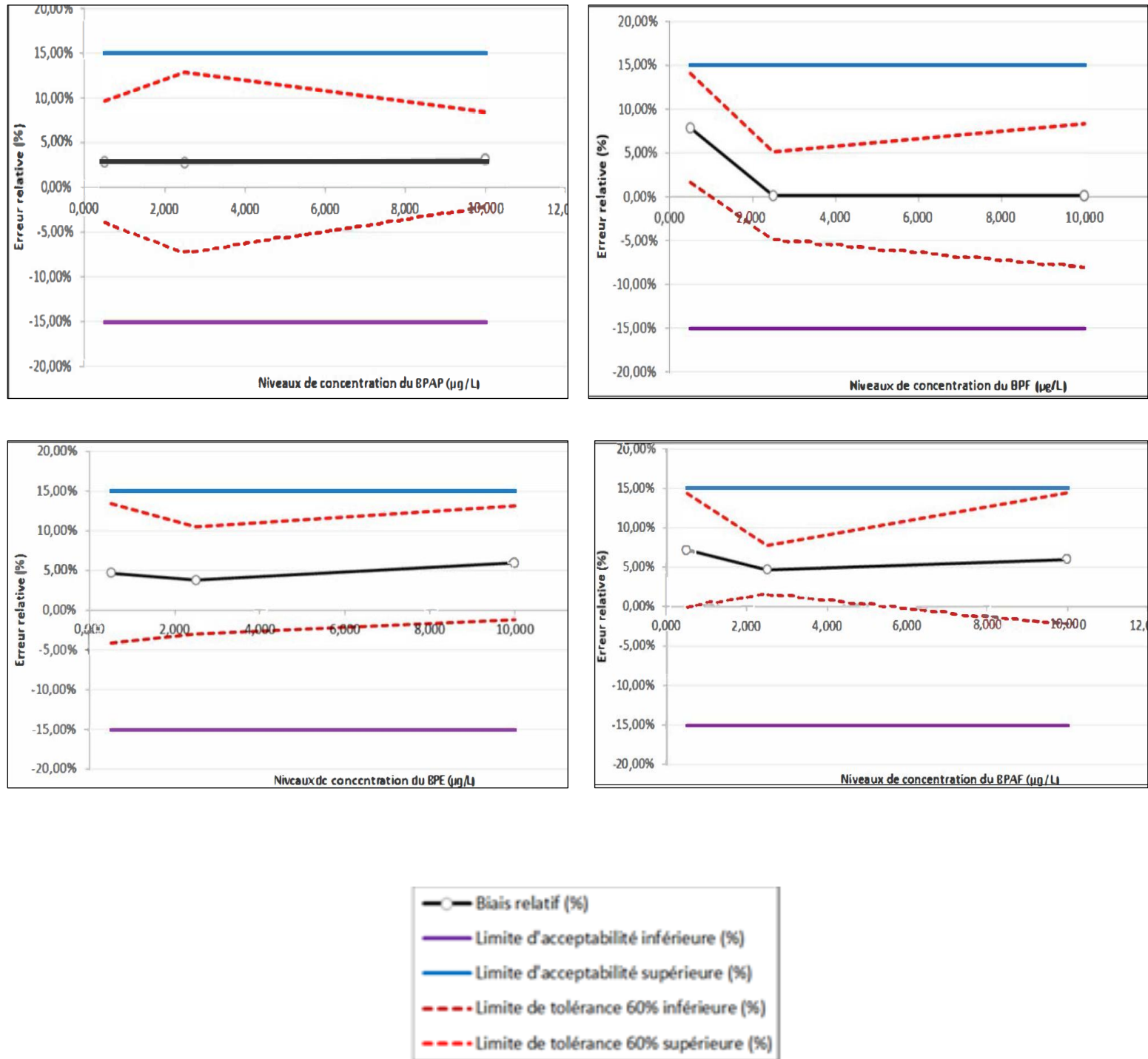


Figure 52 (b) : Profil d'exactitude .Dosage des bisphénols BPAP, BPF, BPE, BPAF

I.2.5.4. Effet matrice et rendement d'extraction

L'effet matrice a été évalué, à trois niveaux de concentration de bisphénols acétylés (0,5 ; 2,5 et 10 µg/L) et sur deux mesures.

Un échantillon urinaire est extrait ; l'extrait, chargé par une quantité Q du dérivé acétylé est analysé. La quantité d'analyte, mesurée dans l'extrait, est rapportée à celle, donnée par une solution renfermant la même quantité Q (dérivé acétylé) dans du T4CE. Les résultats montrent un effet matrice réduit puisque les rapports varient entre **71 % et 93 %**.

Le rendement d'extraction de la méthode a, aussi, été évalué, aux trois niveaux de concentration (**0,5 ; 2,5 et 10 µg/L**). L'échantillon est, d'abord, chargé par une quantité Q du dérivé acétylé puis soumis à l'extraction DLLME. La quantité d'analyte, mesurée dans l'extrait, est rapportée à celle, donnée par une solution renfermant la même quantité Q (dérivé acétylé) dans du T4CE.

Les rendements variaient de **73 % à 89 %** pour le BPA, ce qui est, largement, satisfaisant. Des valeurs, plus faibles (**54-70 %**) ont été obtenues pour les autres bisphénols. L'effet matrice est réduit, l'efficacité de rendement, variant de **71 à 93%** (**tableau 25**).

Tableau 25 : Rendement d'extraction et effet matrice aux trois niveaux de bisphénols.

Niveau de concentration (µg/L)		Première Mesure (%)	Deuxième mesure (%)	Moyenne du rendement d'extraction (%)	Première Mesure (%)	Deuxième mesure (%)	Moyenne de l'effet matrice (%)
0,5	<i>BPA</i>	74	76	75	70	72	71
	<i>BPB</i>	63	61	62	78	70	74
	<i>BPS</i>	63	69	66	89	89	89
	<i>BPZ</i>	66	68	67	74	70	72
	<i>BPAP</i>	64	60	62	80	84	82
	<i>BPF</i>	65	67	66	76	72	74
	<i>BPE</i>	52	58	55	86	90	88
	<i>BPAF</i>	60	76	68	75	77	76
2,5	<i>BPA</i>	73	73	73	84	80	82
	<i>BPB</i>	74	60	67	74	76	75
	<i>BPS</i>	61	63	62	89	93	91
	<i>BPZ</i>	64	65	66	71	73	72
	<i>BPAP</i>	51	55	53	91	91	91
	<i>BPF</i>	67	65	66	78	82	80
	<i>BPE</i>	57	53	55	77	75	76
	<i>BPAF</i>	68	72	70	96	80	88
10	<i>BPA</i>	88	90	89	94	92	93
	<i>BPB</i>	70	62	66	75	73	74
	<i>BPS</i>	56	52	54	88	92	90
	<i>BPZ</i>	64	66	65	80	70	75
	<i>BPAP</i>	62	56	59	74	70	72
	<i>BPF</i>	65	63	64	82	80	81
	<i>BPE</i>	56	58	57	74	72	73
	<i>BPAF</i>	64	60	62	87	89	88

I.2.5.5. Résumé des performances analytiques du dosage du BPA et de ses analogues (tableau 26)

Tableau 26 : Performances analytiques du dosage des huit bisphénols

	Intervalle de dosage (µg/L)	Linéarité	LD (µg/L)	LQ (µg/L)	CV (%)	RSD (%)	Effet matrice (%)	Rendement d'extraction (%)
BPA	0,1 - 10	$y = 0,0217x + 0,0823$ $R^2 = 0,992$	0,03	0,1	9,3 - 16,2	-16 à 3,2	71 - 93	73 - 89
BPB	0,2 - 10	$y = 0,0218x + 0,081$ $R^2 = 0,9935$	0,05	0,2	5,2 - 15,6	-8 à 15,6	74-75	62 - 67
BPS	0,5 - 10	$y = 0,0204x + 0,0801$ $R^2 = 0,9909$	1,00	0,5	0,6 - 9	-6 à -2	89-91	54 - 66
BPZ	0,5 - 10	$y = 0,0211x + 0,0783$ $R^2 = 0,9926$	0,10	0,5	3,8 - 6,2	-4 à 11,6	72-75	65 - 67
BPAP	0,5 - 10	$y = 0,022x + 0,0714$ $R^2 = 0,9906$	0,1	0,5	7,3 - 12,7	-6,4 à -2	72-91	53 - 62
BPF	0,5 - 10	$y = 0,0226x + 0,0683$ $R^2 = 0,992$	0,03	0,5	6,9 - 14,9	-18 à -0,4	74-81	64 - 66
BPE	0,2 - 10	$y = 0,0221x + 0,0794$ $R^2 = 0,992$	0,06	0,2	10 - 12	-6,5 à -3,2	73-88	55 - 57
BPAF	0,2 - 10	$y = 0,0198x + 0,0788$ $R^2 = 0,9917$	0,03	0,2	2,8 - 11,2	-18 à -6	76-88	62 - 70

LD : Limite de détection

LQ : Limite de quantification

CV : Coefficient de variation

RSD : Biais relatif

I.3. Traitement statistique des données

Les tests de Kolmogorov-Smirnov et Levene ont été utilisés pour tester, respectivement, la distribution normale des données et l'homogénéité des variances.

L'analyse des moyennes a été calculée par ANOVA et celle des médianes par le test de Mann-Whitney U ou le test de Kruskal Wallis (paramètres sociodémographiques et professionnels).

Le coefficient de corrélation de Pearson a été calculé pour évaluer les degrés de relation entre les concentrations de BPA et l'âge ainsi que les taux hormonaux et biochimiques.

Le test *t* de student a servi pour l'étude comparative des moyennes des données biologiques des travailleurs professionnellement exposés et non exposés.

Toutes les analyses ont été effectuées au moyen du Statistical Package of Social Sciences version 25.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Le seuil de significativité a été fixé, au minimum à $< 0,05$.

Les valeurs de BPA non détectées, ont été considérées comme nulles. On a attribué, aux concentrations non quantifiées (NQ), comprises entre la LD et la LQ, une valeur égale à la moitié de la limite de quantification ($NQ = 1/2 LQ$); conformément à ce qui est, conventionnellement, admis [299].

CHAPITRE II : RESULTATS

II.1. Population professionnellement exposée au BPA

L'échantillonnage de la population de travailleurs exposés a porté sur **170 sujets** .

Les résultats des données quantitatives, sont exprimés par la moyenne \pm l'écart type ; [valeur minimale - valeur maximale] ; (N=Nombre).

II.1.1. Données socio -médico-démographiques

II.1.1.1. Age

La moyenne d'âge est de **42,67 \pm 8,73 ans** ; [23-60 ans] ; (N=170) – (figure 53).

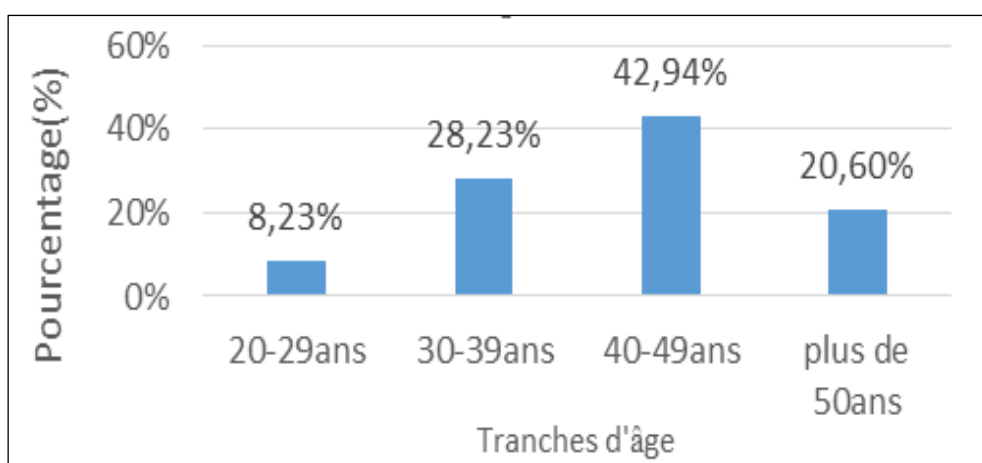


Figure 53 : Répartition des sujets exposés en fonction des tranches d'âge.

II.1.1.2. Poids

Le poids moyen est de **77,58 \pm 9,99 kg** ; [55-101 kg] ; (N=170)

II.1.1.3. Taille

La taille moyenne est de **1,77 \pm 0,08 m** ; [1,57-1,90 m] ; (N=170)

II.1.1.4. Indice de masse corporelle (IMC)

La moyenne de l'IMC [poids (kg) / taille² (m)] est de **24,65 ± 3,20 kg/m²** ; [16,01-39,06] ; (N=170) – (figure 54).

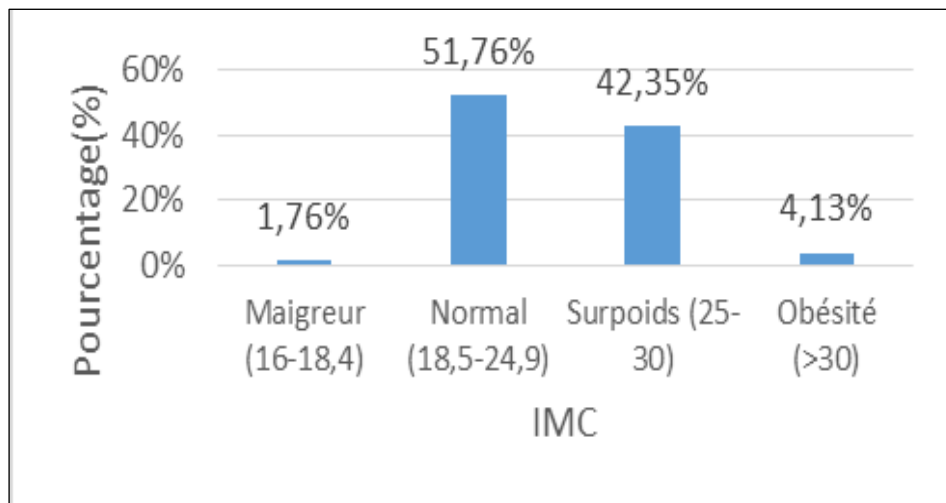


Figure 54 : Répartition des sujets exposés en fonction de l'IMC.

II.1.1.5. Lieu d'habitation

85,80% des sujets de la population étudiée habitent en milieu urbain.

II.1.1.6. Situation familiale

90% des sujets de la population étudiée sont mariés.

II.1.1.7. Nombre d'enfants (chez les sujets mariés)

La moyenne du nombre d'enfants est de **2,50 ± 1,5 enfants** ; [0-6] ; (N=153) – (figure 55).

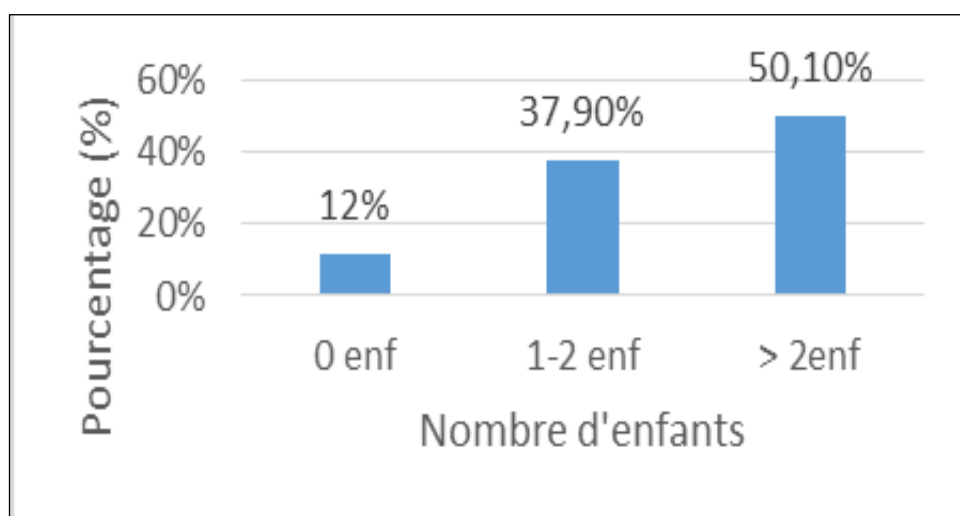
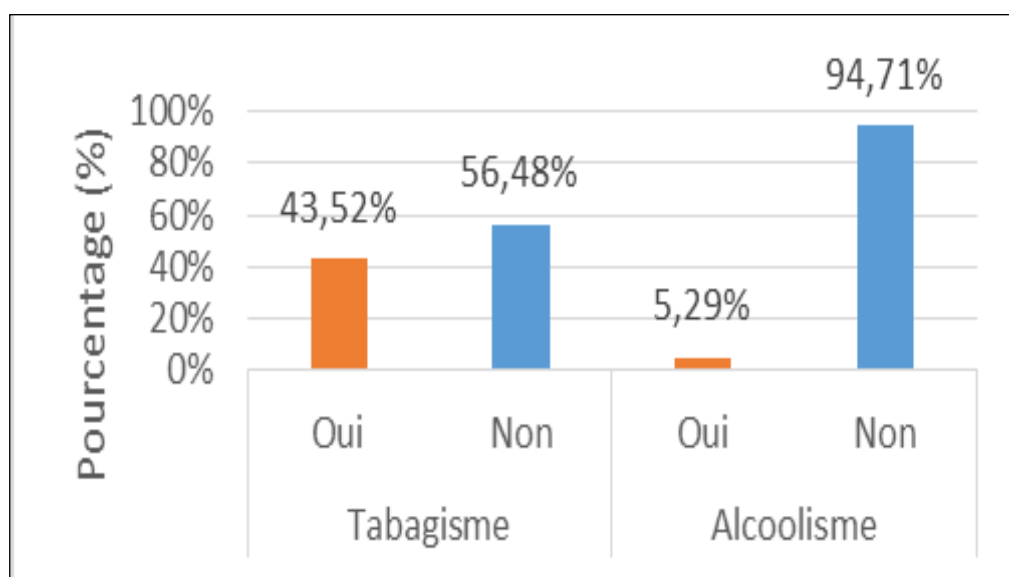


Figure 55 : Répartition des sujets exposés en fonction du nombre d'enfants.

II.1.1.8. Santé des enfants (tableau 27).**Tableau 27** : Etat de santé des enfants des travailleurs professionnellement exposés

Particularités médicales	Effectif / Nombre total d'enfants (N=384)
Asthme	2 / 384
Autisme	1 / 384
Handicap moteur	1 / 384
Hypospadias	1 / 384
Insuffisance rénale	1 / 384
Myopie	1 / 384
Trisomie	2 / 384
Total	9 / 384 (2,34%)
Aucune	375 / 384 (97,66%)

II.1.1.9. Tabagisme et alcoolisme (figure 56).**Figure 56** : Répartition des sujets exposés en fonction du tabagisme et de l'alcoolisme.

II.1.1.11. Antécédents médicaux (tableau 28).**Tableau 28** : Etat de santé des travailleurs professionnellement exposés

Particularités médicales	Effectif / Nombre total de travailleurs
Anxiété	4 / 170 (2,35%)
Appendicite	1 / 170
Asthme	3 / 170 (1,76%)
Azoospermie	1 / 170
Cardiopathie	1 / 170
Diabète	1 / 170
Goitre	1 / 170
Hernie diaphragmatique	1 / 170
Hypertension	3 / 170 (1,76%)
Surdité-mutisme	2 / 170 (1,17%)
Varices œsophagiennes	1 / 170
Total	19 / 170 (11,17 %)
Aucune	151 / 170 (88,83%)

II.1.1.12. Pose récente de composite dentaire

7,64% des sujets déclarent la pose récente (moins d'un an) d'un composite dentaire.

II.1.1.13. Particularités d'ordre sexuel : (figure 57).

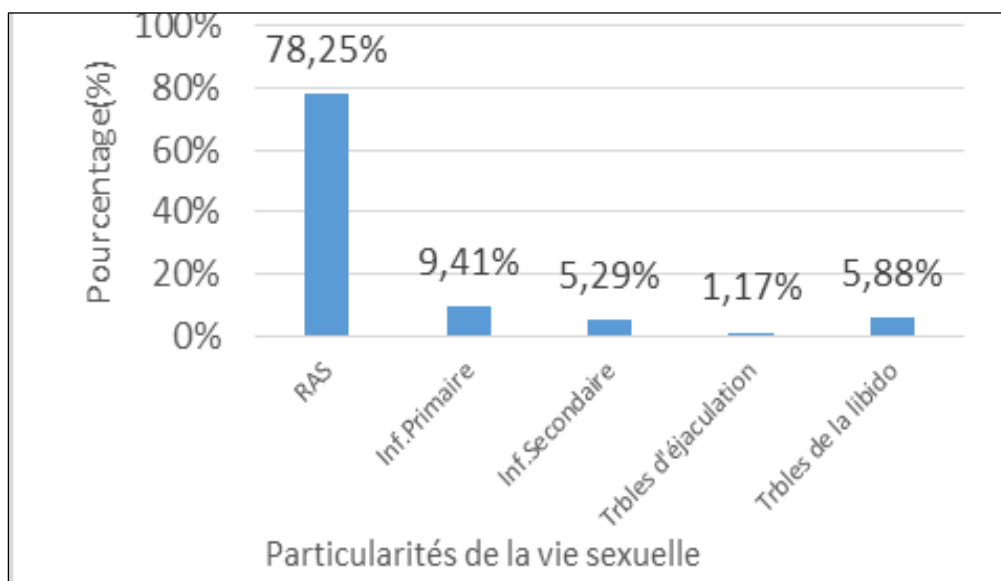


Figure 57 : Répartition des sujets exposés en fonction de particularités d'ordre sexuel.

II.1.2. Données professionnelles

II.1.2.1. Poste de travail (figure 58)

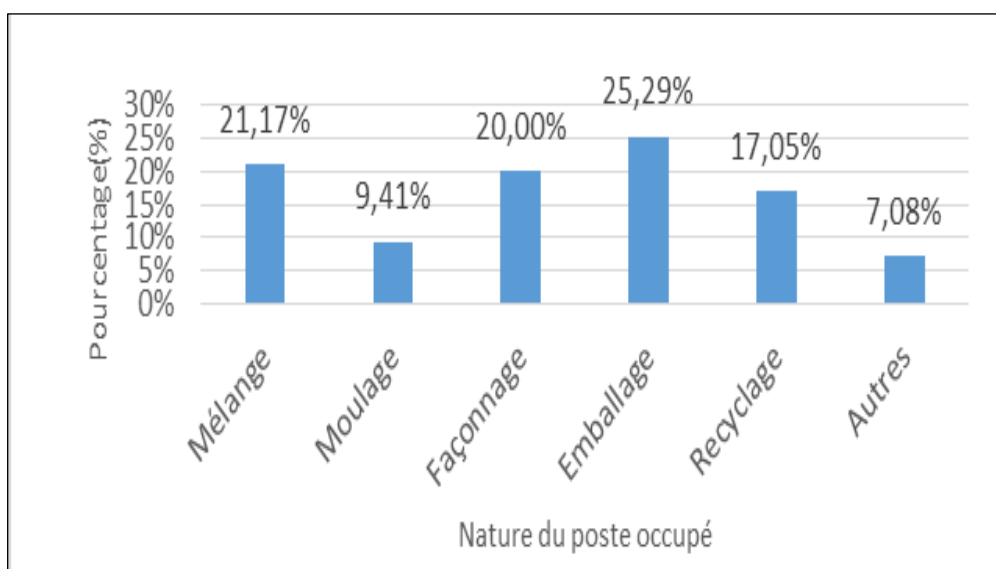


Figure 58 : Répartition des sujets exposés en fonction du poste occupé.

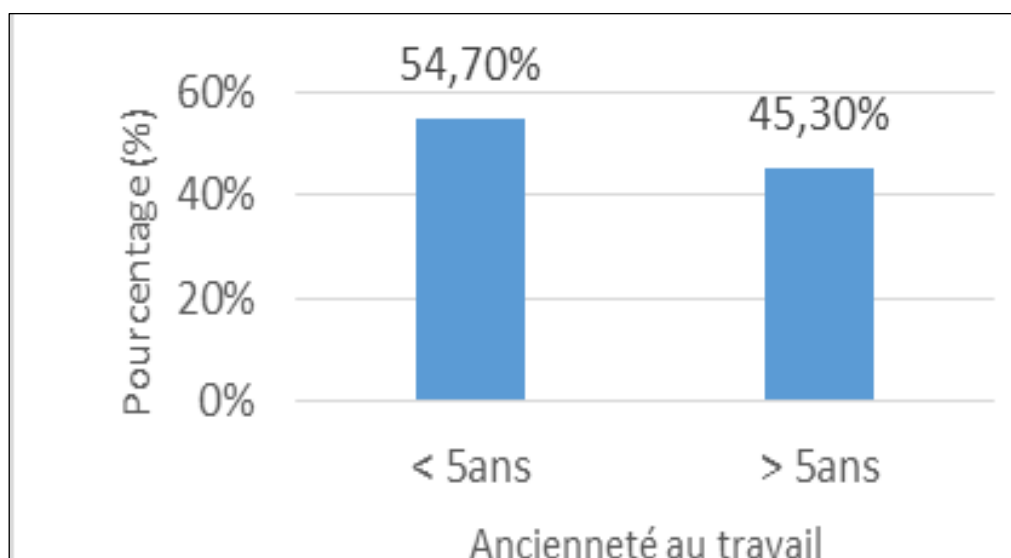
II.1.2.2. Ancienneté professionnelle (figure 59).

Figure 59 : Répartition des sujets exposés en fonction des années d'expérience

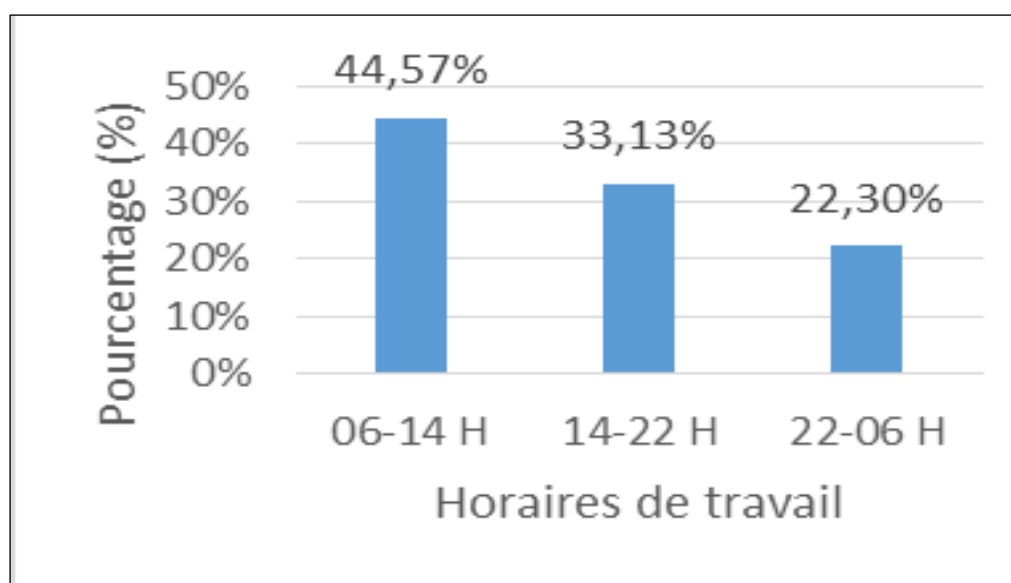
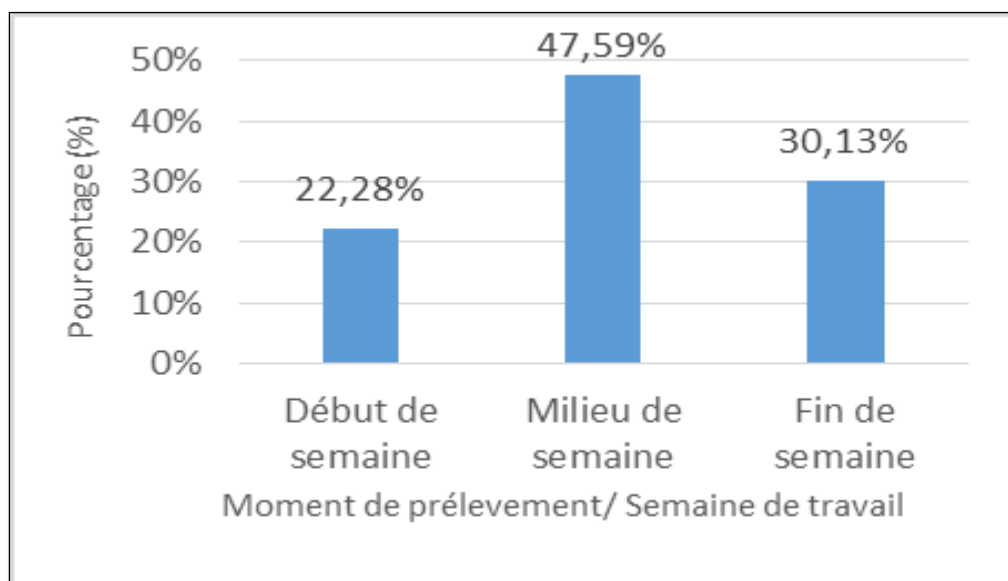
II.1.2.3. Horaires de travail (figure 60).

Figure 60 : Répartition des sujets exposés en fonction des horaires de travail.

II.1.2.4. Moment du prélèvement / début, milieu ou fin de semaine de travail (figure 61).**Figure 61 :** Répartition des sujets exposés en fonction du moment de prélèvement / semaine**II.1.2.5. Moment du prélèvement / début ou fin de journée**

- Début de journée de travail : 33,13 %
- Fin de journée de travail : 66,87 %

II.1.2.6. Protection collective et individuelle

La protection collective concerne la ventilation des locaux et les systèmes d'aération. La protection individuelle concerne le port des gants, des masques et la prise de douche, en fin de travail.

- Seuls 6,63 % des sujets déclarent ne pas bénéficier de protection collective.
- Seuls 27,1 % des sujets déclarent bénéficier d'une protection individuelle.

II.1.3. Données biologiques et toxicologiques

II.1.3.1. Taux de créatinine sanguine

La moyenne des taux de créatinine sanguine est de **10,21 ± 1,58 mg/L** ; [7,21-19,26] ; (N=170).

L'intervalle des taux normaux, chez l'homme, est de 6 à 12 mg/L.

12,36% des sujets présentent une créatininémie supérieure à la norme : les taux vont de 12,09 à 19,26 mg/L.

II.1.3.2. Taux de créatinine urinaire

La moyenne des taux de créatinine urinaire est de **1,12 ± 0,46 g/L** ; [0,32-1,99] ; (N=167)

Valeurs normales, chez l'homme < 1,80 g/L.

12,35 % des sujets présentent une créatininurie supérieure à la normale : les valeurs supérieures aux normes vont de 1,87 à 1,99 g/L

II.1.3.3. Taux de glycémie à jeun

La moyenne des taux de glycémie est de **0,93 ± 0,26 g/L** ; [0,58-2,64] ; (N=170).

Valeurs normales, chez l'homme : 0,7 à 1 g/L.

17,65% des sujets présentent une glycémie supérieure à la norme : les taux vont de 1,01 à 2,64 g/L. 35% présentent une glycémie inférieure à la norme : les taux vont de 0,58 à 0,67 g/L.

II.1.3.4. Taux de cholestérol

La moyenne des taux de cholestérol est de **1,60 ± 0,39 g/L** ; [0,36-3,07] ; (N=170).

Valeurs normales, chez l'homme : inférieures à 2 g/L.

11,77 % présentent des valeurs supérieures à 2 g/L : les taux vont de 2,03 à 3,07 g/L.

II.1.3.5. Taux de triglycérides

La moyenne des taux de triglycérides est de **1,68 ± 0,35 g/L** ; [1,06-2,98] ; (N=166).

Les taux normaux, chez l'homme sont inférieurs à 1,50 g/L.

72,90 % des sujets présentent des valeurs supérieures à la norme : les taux vont de 1,31 à 2,98 g/L.

II.1.3.6. Activité d'ALAT

La moyenne des valeurs d'ALAT est de **20,21 ± 6,84 UI/L** ; [9,60 - 48,17] ; (N=170)

Valeurs normales, chez l'homme : de 8 à 45 UI/L

Seuls, 1,18% des sujets présentent des valeurs supérieures à la norme : les valeurs vont de 46,78 à 48,17 UI/L.

II.1.3.7. Activité d'ASAT

La moyenne des valeurs d'ASAT est de **28,57 ± 7,20 U/L** ; [12,76 – 76,90] ; (N=170).

Intervalle des valeurs normales : de 10 à 40 UI/L.

Seuls, 7,06 % des sujets présentent des valeurs supérieures à la norme : les valeurs vont de 40,17 à 76,90 UI/L.

II.1.3.8. Taux de FSH (figure 62)

La moyenne des taux de FSH sanguine est de **5,89 ± 4,28 mUI/mL** ; [0,87 – 28,10] ; (N=168).

Taux normaux : de 3 à 15 mUI/mL

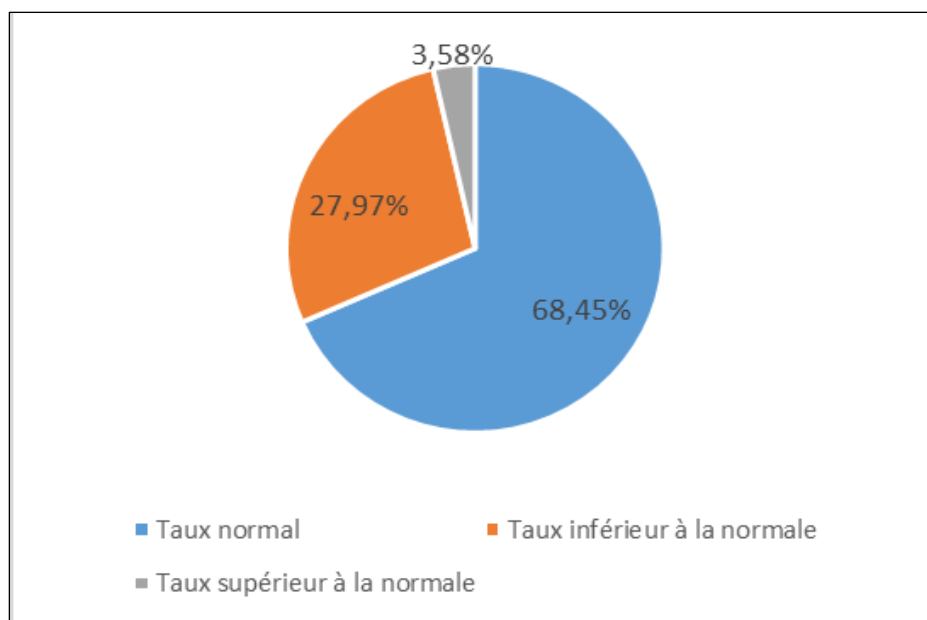


Figure 62 : Répartition des sujets exposés en fonction du taux de FSH.

- Les valeurs inférieures aux normes vont de 0,87 à 2,99 mUI/mL
- Les valeurs supérieures aux vont de 15,80 à 28,10 mUI/mL

II.1.3.9. Taux de LH (figure 63)

La moyenne des taux de LH est de **4,42 ± 2,12 mUI/mL** ; [1,36 – 12,42] ; (N=167).

Taux normaux : 2 à 12 mUI/mL.

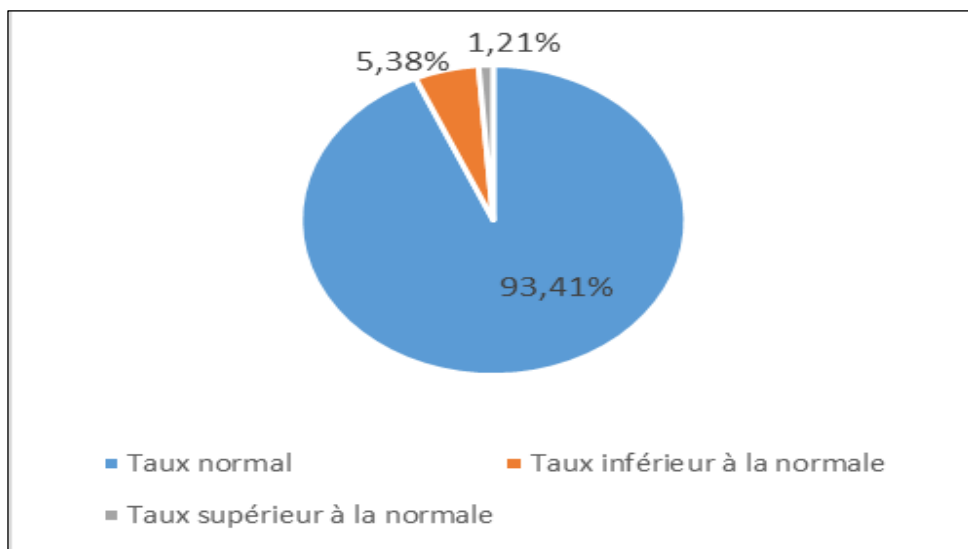


Figure 63 : Répartition des sujets exposés en fonction du taux de LH

- Les valeurs inférieures aux normes vont de 1,36 à 1,98 mUI/mL
- Les valeurs supérieures aux normes sont de 12,42 mUI/mL

II.1.3.10. Taux de testostérone (figure 64)

La moyenne des taux de testostérone sanguine est de **5,81 ± 2,25 mUI/mL** ; [2,13 – 13,57] ; (N=167)

Taux normaux : 1,5 à 10 mUI/mL.

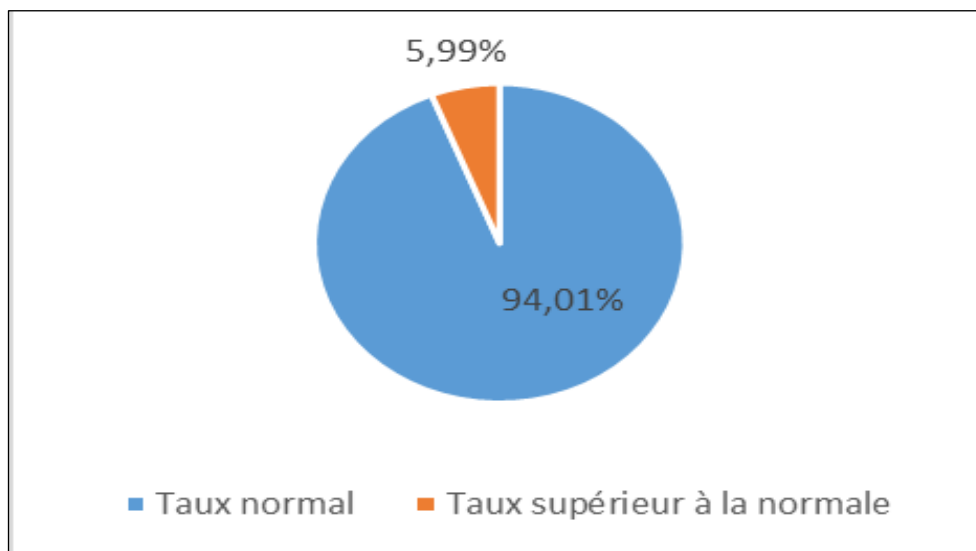


Figure 64 : Répartition des sujets exposés en fonction du taux de testostérone.

- Les valeurs supérieures aux normes vont de 10,07 à 13,57 mUI/mL

II.1.3.11. Taux de plaquettes sanguines

La moyenne des taux de plaquettes sanguines est de **222,70 ± 55,52 10³/μL** ; [123-390]10³/μL ; (N=166)

Taux normaux : 150 à 400 10³/μL

Seuls, 7,84% des sujets présentent un taux de plaquettes sanguines anormal.

Les valeurs inférieures aux normes vont de 123 à 149 10³/μL

II.1.3.12. Taux de leucocytes

La moyenne des taux de leucocytes est de **8,55 ± 2,39 10³/μL** ; [4,70 - 15,98] 10³ ; (N=166).

Taux normaux : 4-10 10³/μL

25,31 % des sujets présentent un taux de leucocytes anormal.

Les valeurs supérieures aux normes vont de 10,20 à 15,98 10³/μL

II.1.3.13. Taux d'hémoglobine

La moyenne des taux d'hémoglobine est de **13,50 ± 1,70 g/dL** ; [8,79 - 16,20] ; (N=166)

Taux normaux, chez l'homme : 13,5 à 17,5 g/dL

42,78 % des sujets présentent un taux d'hémoglobine inférieure aux normes ; les taux vont de 8,89 à 13,40 g/dL

II.1.3.14. Taux urinaires des bisphénols (tableau 29)**Tableau 29 :** Taux urinaires de BPA (total et libre) et de BPB total, chez les sujets professionnellement exposés

	Taux de BPA total (µg/L)	Taux de BPA total / créatinine (µg/g)	Taux de BPA libre (µg /L)	Taux de BPA libre / créatinine (µg/g)	Taux de BPB total (µg /L)	Taux de BPB total / créatinine (µg /g)
Nombre d'échantillons analysés	166	166	170	170	166	166
Nombre d'échantillons où le bisphénol est détecté (pourcentage)	134 (80,72 %)		62 (36,47 %)		3 (1,8 %)	
Moyenne	3,24	3,70	0,31	0,41	2,73	4,41
[Valeur minimale – Valeur maximale]	[ND -21,35]	[ND - 49,65]	[ND - 13,09]	[ND -17,22]	[ND - 7,13]	[ND-10,97]
Médiane	0,84	0,67	0	0	0,92	2,13
Ecart type	4,66	6,44	1,4	1,99	3,82	5,76
Percentiles						
25	0,05	0,29	0	0	0,15	0,18
50	0,84	0,67	0	0	0,92	2,13
75	5,06	5,64	0,05	0,05	7,13	10,96

ND : non détecté (< LD)

Les autres bisphénols, BPS, BPZ, BPP, BPE, BPAF, BPAP, n'ont pas été détectés dans l'ensemble de l'échantillonnage.

II.1.4. Données statistiques

II.1.4.1. Données de corrélation entre les taux de BPA total et les variables sociodémographiques, professionnelles, biologiques et toxicologiques

a- Variables sociodémographiques et style de vie

- Il n'existe pas de corrélation significative entre le poids ($r = -0,056$; $p = 0,47$), la taille ($r = -0,1$; $p = 0,2$), l'IMC ($r = 0,006$; $p = 0,96$) et les taux urinaires de BPA total.
- Par contre, il existe une corrélation significative entre le taux urinaire de BPA libre et l'âge ($r = 0,23$; $p = 0,022$) (**figure 65a et 65b**).

b- Variables d'hormonologie

- Il n'existe pas de corrélation entre les taux de BPA total et les taux de testostérone sanguine ($r = 0,106$; $p = 0,83$), de même que pour les taux de BPA total et les taux de LH sanguine ($r = -0,11$; $p = 0,15$).
- Par contre, les taux de BPA total sont corrélés aux taux de FSH sanguine ($r = 0,14$; $p = 0,066$) (**figure 66**).

c- Variables biochimiques et hématologiques

- Il n'existe pas de corrélation significative entre, d'une part, les taux urinaires de BPA total et d'autre part, le taux de créatinine sanguine ($r = -0,052$; $p = 0,508$), créatinine urinaire ($r = -0,026$; $p = 0,722$), ALAT ($r = -0,084$; $p = 0,28$), ASAT ($r = -0,111$; $p = 0,153$), TG ($r = -0,15$; $p = 0,074$), cholestérol ($r = -0,134$; $p = 0,085$) ou les paramètres hématologiques.

d- Variables toxicologiques

- Il existe une corrélation significative entre, d'une part, les taux de BPA total et, d'autre part, les taux de BPA libre ($r = 0,24$; $p = 0,001$) ou les taux de BPA libre ajustés à la créatinine ($r = 0,21$; $p = 0,005$) (**figure 67, 68**).

Toutes les données de corrélation (coefficient de corrélation de Pearson et valeur de p) entre les taux urinaires de BPA et les différentes variables d'intérêt sont résumées dans le tableau 30.

Tableau 30 : Données de corrélation (Pearson) entre les taux urinaires de BPA et les différentes variables d'intérêt. Groupe exposé.

		BPA total	BPA total / créatinine	BPA libre	BPA libre / créatinine
Age	r	0,123	0,54	0,234	0,635
	Sig.	0,113	0,453	0,022	0,010
Poids	r	-0,056	0,760	-0,234	0,09
	Sig.	0,473	0,526	0,613	0,884
Taille	r	-0,100	0,09	0,632	0,123
	Sig.	0,200	0,659	0,252	0,521
IMC	r	0,006	0,872	-0,765	0,023
	Sig.	0,963	0,687	0,837	0,812
Créatinine urinaire	r	-0,026	-	-0,08	-
	Sig.	0,722	-	0,302	-
FSH	r	0,144	0,133	0,054	0,06
	Sig.	0,066	0,089	0,484	0,440
LH	r	-0,11	-0,054	0,009	0,003
	Sig.	0,150	0,47	0,49	0,92
Testostérone	r	0,106	0,002	0,007	-0,02
	Sig.	0,839	0,980	0,933	0,801
Glycémie	r	0,003	-0,071	-0,059	-0,11
	Sig.	0,970	0,360	0,447	0,153
Créatinine sanguine	r	-0,052	-0,034	0,001	-0,015
	Sig.	0,508	0,666	0,993	0,850
Cholestérol	r	-0,134	-0,092	0,024	-0,004
	Sig.	0,085	0,236	0,754	0,956
Triglycérides	r	-0,150	-0,12	-0,067	-0,069
	Sig.	0,074	0,123	0,385	0,373
ALAT	r	-0,084	0,036	0,042	0,035
	Sig.	0,281	0,644	0,589	0,646
ASAT	r	-0,111	0,076	-0,039	-0,32
	Sig.	0,153	0,330	0,612	0,678
Plaquettes sanguines	r	-0,088	0,011	0,033	0,044
	Sig.	0,268	0,891	0,668	0,576
Leucocytes	r	0,017	-0,036	0,034	0,002
	Sig.	0,833	0,646	0,667	0,984
Hémoglobine	r	-0,088	-0,030	0,109	0,099
	Sig.	0,264	0,705	0,161	0,206
BPA total/Créatinine	r	0,87	1	0,26	0,27
	Sig.	0,001	-	0,001	0,001
BPA libre	r	0,24	0,26	1	0,96
	Sig.	0,001	0,001	-	0,001
BPA libre / Créatinine	r	0,21	0,27	0,96	1
	Sig.	0,005	0,001	0,001	-

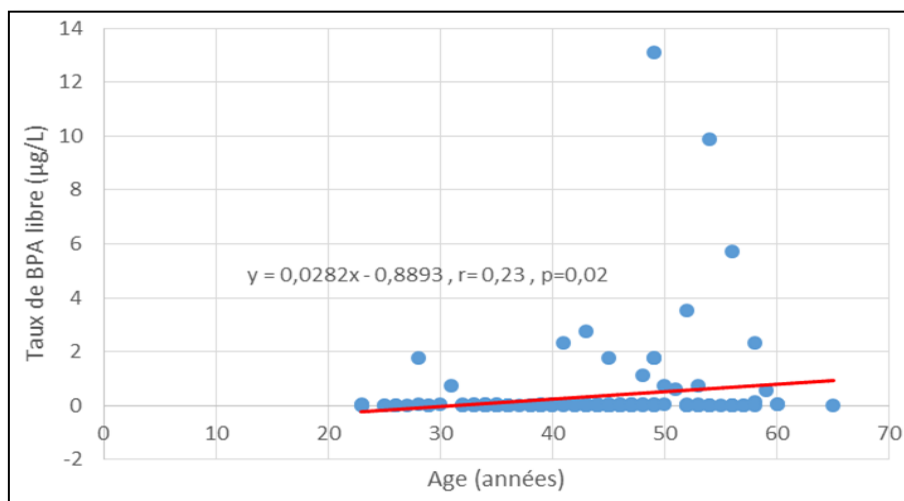


Figure 65(a) : Corrélation entre les taux de BPA libre et l'âge. Sujets exposés.

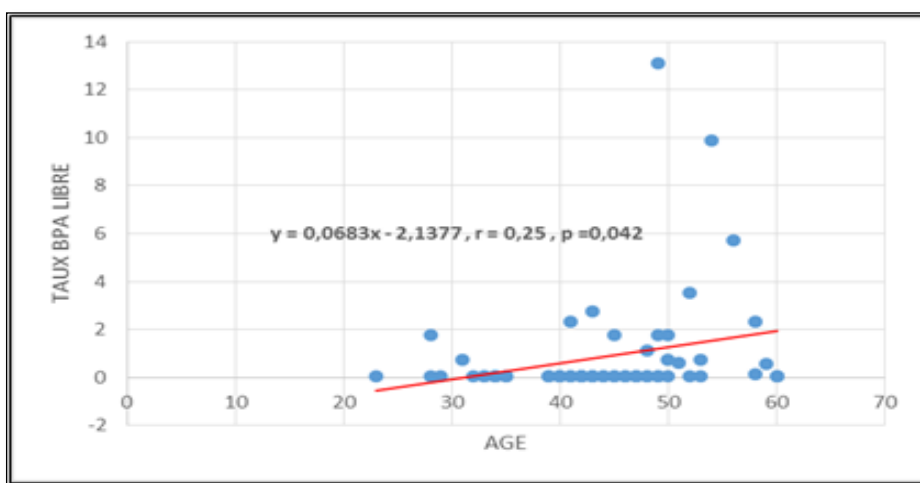


Figure 65(b) : Corrélation entre les taux détectés de BPA libre et l'âge. Sujets exposés.

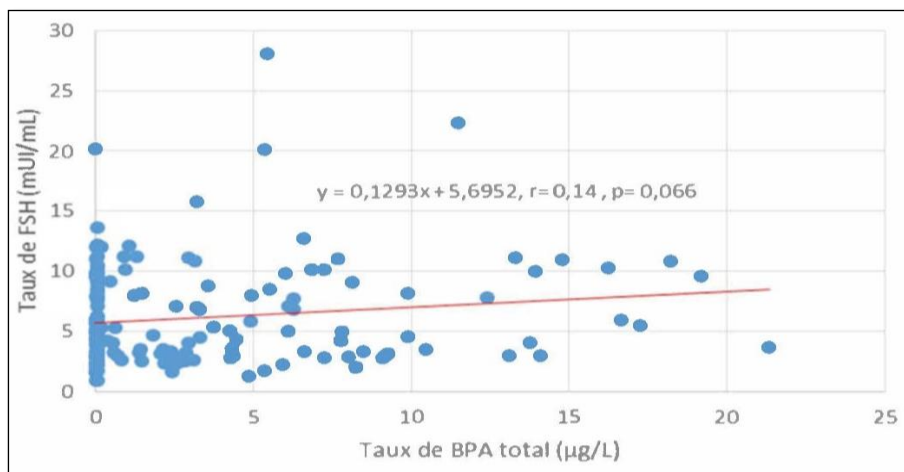


Figure 66 : Corrélation entre les taux de BPA total et les taux de FSH. Sujets exposés.

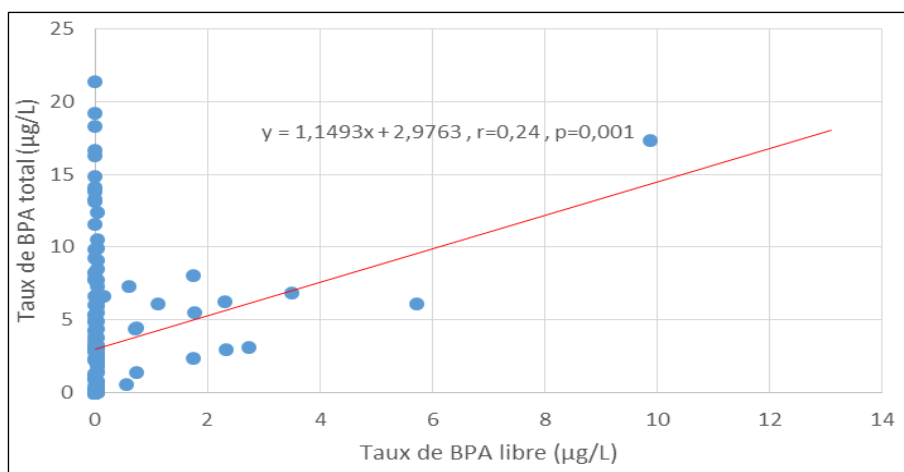


Figure 67 : Corrélation entre les taux de BPA total et les taux de BPA libre. Sujets exposés

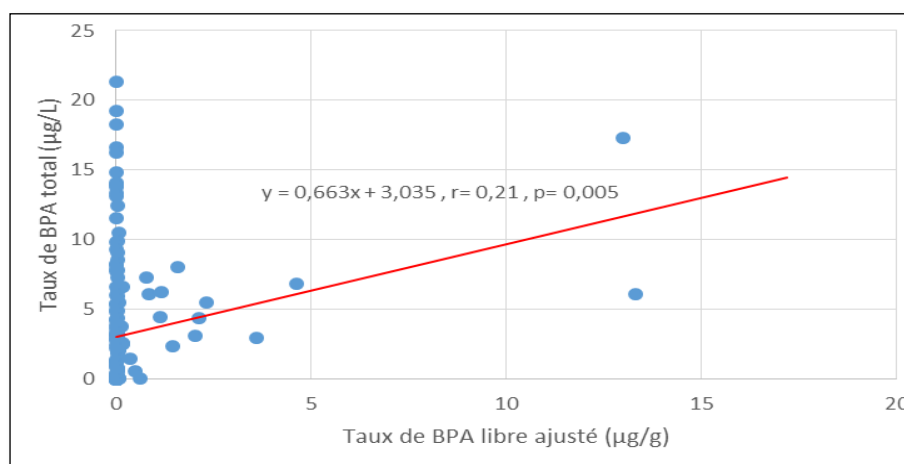


Figure 68 : Corrélation entre les taux de BPA total et les taux de BPA libre ajustés. Sujets exposés

II.1.4.2. Données comparatives des moyennes et des médianes

Les variables ont été classées en deux ou plusieurs groupes ; la comparaison des moyennes a été réalisée par le test d'ANOVA et le test Student, selon le cas (**tableau 31**). Pour la comparaison des médianes, il a été utilisé le test U de Mann–Whitney et le test de Kruskal Wallis (**tableau 32**).

Tableau 31 : Données comparatives des moyennes de BPA total en fonction des variables sociodémographiques biologiques et professionnels. Groupe exposé.

	Groupes	N*	Taux de BPA total moyenne ± ET (µg/L)	p value
Données sociodémographiques et mode de vie				
Age (années)	20-29	14	4,13 ± 6,42	0,007
	30-39	48	2,53 ± 4,22	
	40-49	70	2,43 ± 3,30	
	≥50	34	5,53 ± 6,04	
IMC	16-18,4	3	3,81 ± 3,31	0,849
	18,5-24,9	86	2,94 ± 4,00	
	25-30	70	3,50 ± 5,35	
	>30	7	4,03 ± 5,93	
Habitation	Urbaine	142	3,23 ± 4,65	0,825
	Rurale	23	3,46 ± 4,89	
Tabagisme	Oui	72	4,01 ± 5,26	0,063
	Non	94	2,65 ± 4,08	
Alcoolisme	Oui	9	3,24 ± 4,31	0,980
	Non	157	3,24 ± 4,69	
Situation familiale	Marié	149	3,32 ± 4,69	0,500
	Célibataire	17	2,51 ± 4,44	
Pose récente de composite dentaire	Oui	13	3,44 ± 5,70	0,873
	Non	153	3,22 ± 4,59	
Données sur la fertilité				
Nombre d'enfants (chez les sujets mariés)	0	18	2,38 ± 3,16	0,250
	1-2	58	3,37 ± 4,95	
	>2	77	3,49 ± 4,80	
Vie sexuelle et fertilité	RAS	131	3,25 ± 4,90	0,962
	Infertilité primaire	15	3,47 ± 3,54	
	Infertilité secondaire	8	3,57 ± 4,90	
	Troubles de la libido	10	2,93 ± 3,38	
	Troubles de l'éjaculation	2	0,91 ± 1,29	
Taux FSH	Normal	111	3,06 ± 4,70	0,466
	Anormal (<VN)	53	3,63 ± 4,70	
Taux LH	Normal	152	3,27 ± 4,79	0,959
	Anormal (<VN)	11	3,19 ± 3,35	
Taux testostérone	Normal	153	3,30 ± 4,72	0,695
	Anormal (>VN)	10	2,70 ± 4,46	

	Groupes	N*	Taux de BPA total moyenne ± ET (µg/L)	p value
Données professionnelles				
Niveau d'exposition au travail	Forte exposition	81	3,84 ± 4,88	0,080
	Faible exposition	85	2,61 ± 4,36	
Poste occupé	Mélange de résine	36	3,26 ± 4,17	0,129
	Moulage de résine	15	5,64 ± 4,94	
	Façonnage produit	34	3,66 ± 5,48	
	Emballage	40	2,79 ± 4,42	
	Recyclage de déchets	29	3,20 ± 4,94	
	Autres (Administratifs / sécurité)	12	0,58 ± 1,16	
	Nombre d'années de travail	<5 ans	93	
>5ans		73	3,77 ± 4,22	
Protection collective	Oui	155	3,34 ± 4,64	0,310
	Non	11	1,86 ± 4,97	
Protection individuelle	Oui	45	3,69 ± 4,58	0,446
	Non	121	3,07 ± 4,70	
Horaires de travail	6h - 14h	74	2,93 ± 4,26	0,551
	14h - 22h	55	3,80 ± 4,85	
	22h - 6h	37	3,02 ± 4,66	
Moment du prélèvement	Début de journée de travail	55	3,80 ± 4,85	0,276
	Fin de journée de travail	111	2,96 ± 4,56	
Moment du prélèvement	Début de semaine	37	1,97 ± 3,64	0,172
	Milieu de semaine	79	3,56 ± 5,15	
	Fin de semaine	50	3,63 ± 4,46	
Alimentation au travail	Oui	53	2,40 ± 3,63	0,123
	Non	113	3,63 ± 5,04	
Co-exposition	Solvant	36	4,17 ± 0,69	0,674
	Peinture	32	4,76 ± 0,84	
	Monomère/Additif	15	4,89 ± 1,26	
	Aucune	39	4,46 ± 0,71	
Données biologiques				
Créatininurie	Normale	143	3,35 ± 4,72	0,685
	Anormale (> VN)	20	2,90 ± 4,48	
Créatininémie	Normale	145	3,28 ± 4,76	0,766
	Anormale (> VN)	21	2,95 ± 4,01	
Taux de cholestérol	Normal	147	3,52 ± 4,85	0,033
	Anormal (> VN)	19	1,10 ± 1,63	
Taux de triglycérides	Normal	44	3,36 ± 5,03	0,805
	Anormal (> VN)	118	3,15 ± 4,56	
Activité ALAT	Normale	164	3,25 ± 4,69	0,820
	Anormale (> VN)	2	2,49 ± 0,15	
Activité ASAT	Normal	154	3,42 ± 4,77	0,173
	Anormal (> VN)	12	0,92 ± 1,79	
Glycémie	Normale	116	3,19 ± 4,67	0,832
	Anormale (> VN)	50	3,36 ± 4,68	
Taux de plaquettes	Normal	149	3,15 ± 4,51	0,132
	Anormal (< VN)	13	5,20 ± 6,37	
Taux de leucocytes	Normal	121	3,26 ± 4,78	0,807
	Anormal (>VN)	41	3,47 ± 4,50	
Taux d'hémoglobine	Normal	92	3,43 ± 4,58	0,730
	Anormal (< VN)	70	3,17 ± 4,87	

* Le nombre de sujets, dans chaque groupe, peut ne pas correspondre au nombre total, en raison de valeurs manquantes.

-L'IMC a été classé comme suit : 16-18,4, maigreur ; 18,5-24,9, poids normal ; 25-30, surpoids et > 30, obésité

-Ont été classés non-fumeurs, les sujets qui n'ont, jamais, fumé ou qui ont arrêté de fumer, depuis plus d'un an.

- Non consommateur d'alcool (0 g/jour) ; consommateurs (quelle que soit la quantité).

-Pose du composite dentaire : récente = moins d'une année.

-Plage normale de FSH : de 3 à 15 UI/L.

-Plage normale de LH : de 2 à 12 UI/L.

-Plage normale de testostérone : de 1,5 -10 mUI/mL.

-Forte exposition : mélange, moulage de la résine et façonnage du produit semi-fini.

Faible exposition : emballage, nettoyage et autres postes (administratifs, électriciens, agents de sécurité).

-La protection collective concerne la ventilation des locaux et les systèmes d'aération.

-La protection individuelle concerne le port des gants, des masques et la prise de douche, en fin de travail.

-Moment de prélèvement : en début de journée (début du poste, à 14h) ; fin de journée (début, à 6h et à 22h).

-Moment de prélèvement : en début de semaine (dimanche) ; mi - semaine (mardi) ; fin de semaine (jeudi).

-Co-exposition : solvant associé au mélange de la résine ; monomères, au moulage de la résine ; peinture, au façonnage du produit

-Plage normale (homme) de la créatininémie : 6-12 mg/L.

-Plage normale (homme) de la créatininurie : < 1,80 g/L.

-Plage normale (homme) du cholestérol : < 2 g/L.

-Plage normale (homme) des triglycérides : < 1,50 g/L.

-Plage normale (homme) de l'ALAT : 8 - 45 UI/L

-Plage normale (homme) de l'ASAT : 10 - 40 UI/L

-Plage normale (homme) de la glycémie à jeun : 0,7 – 1,10 g/L

-Plage normale (homme) des plaquettes : 150 - 400 $10^3/\mu\text{L}$

-Plage normale (homme) des leucocytes : 4-10 $10^3/\mu\text{L}$

-Plage normale (homme) de l'hémoglobine : 13,5 - 17,5 g/dL

A- Variables sociodémographiques et style de vie

Age : Il existe une différence significative entre les moyennes ($p = 0,007$) et les médianes ($p = 0,01$) des taux de BPA total, selon les différents groupes d'âge. Le groupe des sujets de plus de 50 ans présentent les valeurs les plus élevées de BPA (moyenne = $5,53 \mu\text{g/L}$, médiane = $4,31 \mu\text{g/L}$) (**figure 69**).

La différence est significative entre la moyenne des sujets **de plus de 50 ans**, d'une part, et celles des sujets âgés de 30-39 ans ($p = 0,048$) ou les sujets de 40-49 ans ($p = 0,012$), d'autre part.

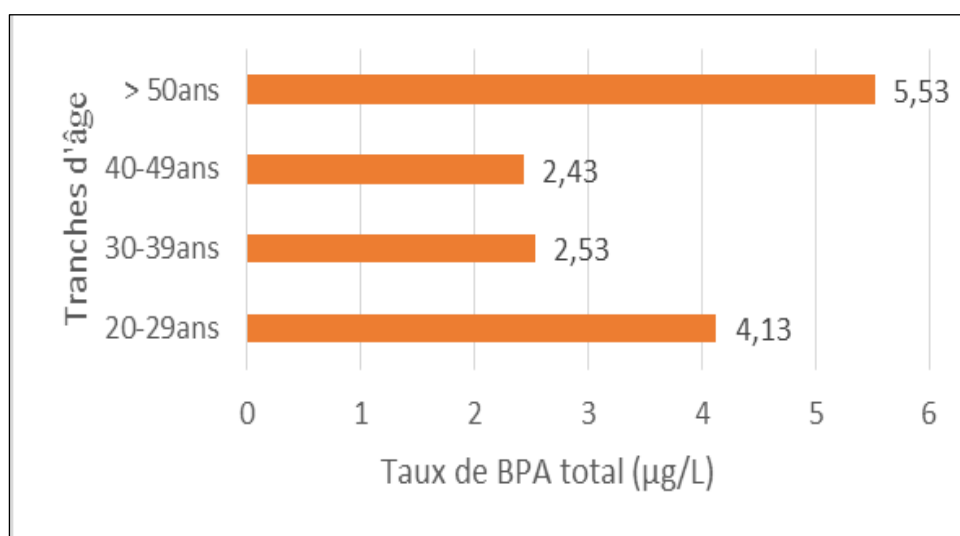


Figure 69 : Taux de BPA total en fonction des tranches d'âge. Sujets exposés.

IMC : le taux moyen de BPA total ($4,03 \mu\text{g/L}$) est plus élevé chez les sujets présentant une obésité ($\text{IMC} > 30$; $N = 7$) par rapport aux autres groupes. Cependant, la différence n'est pas significative ($p = 0,849$, pour la moyenne et $0,64$, pour la médiane).

Tabagisme : le taux moyen ($4,01 \mu\text{g/L}$) et la médiane de BPA ($1,65 \mu\text{g/L}$) sont plus élevés, chez les fumeurs ($N = 72$) par rapport aux non-fumeurs ($N = 94$). La différence est à la limite de la significativité ($p = 0,063$).

Type d'habitat, alcoolisme, situation familiale, pose récente d'amalgame dentaire : ces paramètres ne semblent pas influencer, significativement, les taux de BPA total, selon les différents groupes (p allant de $0,26$ à $0,98$).

B- Variables de fertilité et d'hormonologie

Nombre d'enfants : Il n'y a pas de différence significative entre les taux moyens ($p = 0,25$) et les médianes ($p = 0,226$) de BPA total, chez les sujets ayant des enfants ($N = 135$) par rapport à ceux qui n'en ont pas ($N = 18$).

Particularités de la vie sexuelle : Les taux moyens de BPA total sont plus élevés chez les sujets présentant une infertilité primaire (3,47 µg/L ; N=15) et secondaire (3,57 µg/L ; N= 8). Les médianes sont plus élevées chez les sujets présentant une infertilité primaire (2,6 µg/L ; N= 15) et des troubles de la libido (2,57 µg/L. N= 10).

Taux LH et testostérone : Il n'existe pas de différence significative entre les taux moyens de BPA, du groupe présentant des valeurs normales (N= 152 : LH et N= 153 : testostérone) et ceux du groupe présentant des valeurs sub-normales (N= 11 : LH et N= 10 : testostérone) ; p=0,95 pour la LH et 0,69 pour la testostérone. Il en est de même des médianes (p= 0,65 pour la LH et 0,52 pour la testostérone).

Taux de FSH : La moyenne de BPA total est plus élevée, chez les sujets présentant un taux de FSH bas par rapport aux sujets présentant des taux normaux (3,06 µg/L de BPA ; N= 111 Vs 3,63 µg/L de BPA ; N= 53). Il en est de même des médianes où la différence est à la limite de la significativité (2,19 µg/L Vs 0,58 µg/L, p=0,074).

C- Variables professionnelles

1/ Niveau d'exposition : Les postes de travail ont été répartis en deux groupes :

- Un groupe de postes, à priori, plus exposés (PEX) ; il rassemble les mélangeurs de matières premières, les mouleurs de résine et les façonneurs de produits finis.
- Un groupe de postes moins exposés (MEX) ; il s'agit des emballeurs de produits finis, des recycleurs de déchets, des administrateurs, des agents de sécurité et des électriciens.

Le taux moyen de BPA total, chez les sujets du groupe PEX (3,84 µg/L ; N= 81), est supérieur à celui des sujets MEX (2,61 µg/L ; N= 85), la différence est à la limite de la significativité (p=0,08). La différence est, par contre, significative pour les médianes (1,91 µg/L Vs. 0,05 µg/L ; p=0,023).

Le poste de moulage de résine présente le plus haut taux moyen : 5,64 µg/L ; N= 15. Le taux moyen, chez les travailleurs occupant le poste de mélange, est de 3,26 µg/L (N= 36). Celui des sujets du poste de façonnage, est de 3,66 µg/L (N= 34).

Les sujets travaillant à l'emballage, présentent une moyenne de 2,79 µg/L (N= 40) ; ceux du recyclage des déchets, une moyenne de 3,20 µg/L (N= 29).

La plus basse moyenne revient au personnel administratif et de sécurité (0,58 µg/L ; N=12). Elle est, significativement, inférieure à celle des sujets occupés au mélange et au moulage de résine (p = 0,015 et 0,014) et à celle des travailleurs chargés du façonnage (p = 0,041) (**figure 70**).

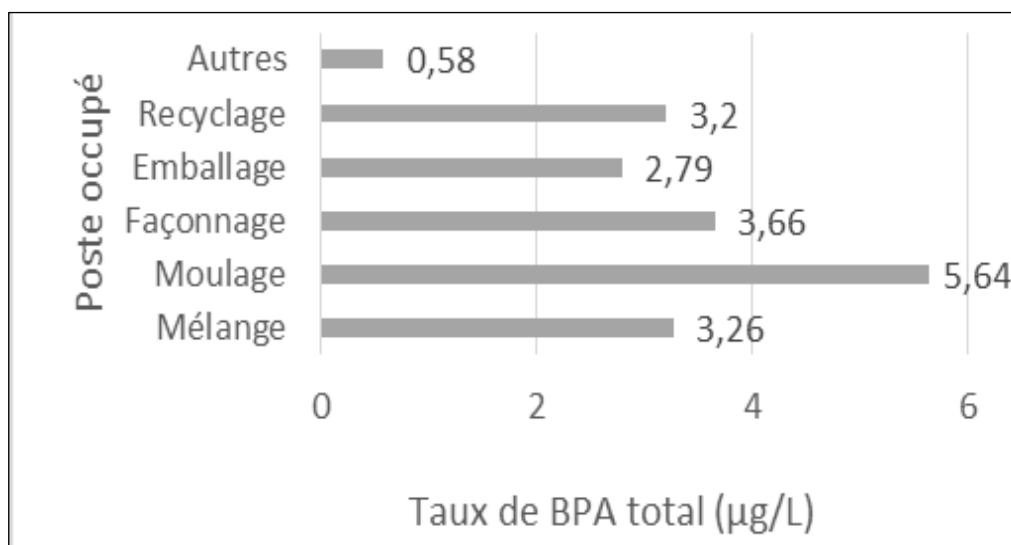


Figure 70 : Taux de BPA total en fonction des postes occupés. Sujets exposés.

2/ Expérience professionnelle (années de travail dans la même entreprise)

Le taux moyen de BPA total, chez les sujets ayant travaillé depuis plus de cinq ans (3,77 µg/L ; N= 73), est supérieur à celui des sujets de moins de cinq ans (2,82 µg/L ; N= 93), cette différence n'est pas significative ($p=0,19$). La différence est, par contre, significative pour les médianes (2,58 µg/L Vs. 0,05 µg/L ; $p=0,001$) (**figure 71**).

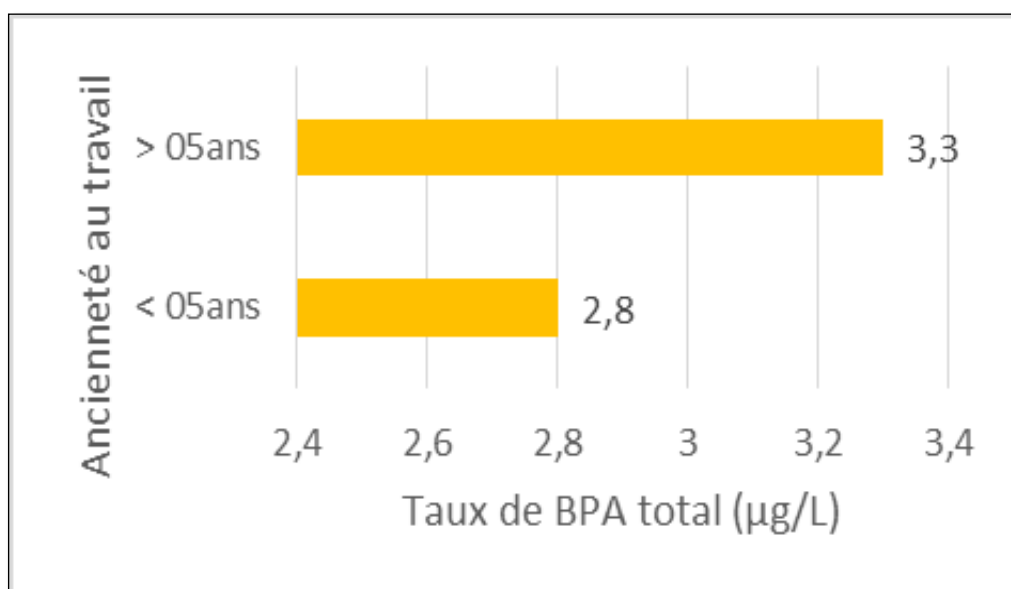


Figure 71: Taux de BPA total en fonction des années d'expérience. Sujets exposés.

3/ Moyens de protection collective et individuelle : Les sujets déclarant bénéficier de protection collective (N=155), affichent un taux moyen (3,34 µg/L) et une médiane (1,21 µg/L) plus élevés que ceux déclarant ne pas en bénéficier (moyenne de 1,86 µg/L et médiane de 0,05 µg/L ; N= 11), cette différence n'est pas significative (p=0,31 pour la moyenne et 0,32 pour la médiane). Le constat est le même pour la protection individuelle.

4/ Moment de travail : Les sujets travaillant de 14h à 22h (N= 55) présentent une moyenne (3,80 µg/L) et une médiane (2,43 µg/L) supérieures à celles des sujets travaillant de 6h à 14h (N= 74) et de 22h à 6h (N=37) ; cependant la différence n'est pas significative (p= 0,55 pour la moyenne et p= 0,16 pour la médiane).

5/ Moment de prélèvement : Les travailleurs prélevés en début de journée (premières urines du matin ; N=55), présentent une moyenne de BPA (3,80 µg/L) et une médiane (2,43 µg/L) supérieures à celles des sujets prélevés en fin de journée (moyenne = 2,96 µg/L ; médiane = 0,61µg/L ; N= 111). La différence n'est pas significative.

S'agissant du moment de prélèvement, au cours de la semaine de travail, les prélèvements de fin de semaine (N= 50) présentent un taux moyen de BPA (3,63 µg/L) et une médiane (2,13 µg/L) supérieurs à ceux correspondant au début de semaine (moyenne =1,97 µg/L ; médiane = 0,05 µg/L ; N= 37) ou milieu de semaine (moyenne = 3,56 µg/L ; médiane = 0,89 µg/L ; N=79). La différence n'est pas significative.

6/ Co-exposition : Les travailleurs soumis à une co-exposition aux monomères (additifs ajoutés lors de la phase de moulage) présentent une moyenne de BPA (4,89 µg/L) et une médiane (3,21 µg/L) supérieures à celles des sujets co-exposés aux autres produits chimiques (solvants, peinture..). La différence n'est pas significative (p=0,674 pour la moyenne et p=0,22 pour la médiane).

D- Variables biochimiques et hémobiologiques

Selon chacune des valeurs biochimiques et hémobiologiques, les sujets ont été répartis en deux groupes : ceux présentant des valeurs normales (groupe N) et ceux présentant des valeurs anormales (groupe AN). Il s'agit, dans ce dernier cas, de valeurs supérieures à la normale (créatininurie, créatininémie, cholestérol, triglycérides, glycémie, ALAT, ASAT, leucocytes) ou de valeurs inférieures à la normale (plaquettes sanguines, hémoglobine). Les taux de BPA total sont comparés selon l'appartenance à l'un des 2 groupes.

1/ Créatininurie : Il n'existe pas de différence significative (p= 0,68) entre les deux groupes. Groupe N : moyenne de BPA, 3,35 µg/L et médiane, 0,92 µg/L ; N= 143. Groupe AN : moyenne de 2,90 µg/L et médiane de 0,29 µg/L ; N=20.

2/ Cholestérol : La différence est significative entre les deux groupes (p= 0,033 pour la moyenne et p=0,028 pour la médiane). Groupe AN : moyenne de 1,10 µg/L et médiane de 0,05 µg/L ; N= 19 Groupe N : moyenne de 3,49 µg/L et médiane de 1,06 µg/L ; N=147).

3/ Triglycérides : Il n'existe pas de différence significative entre les deux groupes ($p = 0,80$ pour la moyenne et $p = 0,14$ pour la médiane). Groupe AN : moyenne de $3,15 \mu\text{g/L}$ et médiane de $1,32 \mu\text{g/L}$; $N = 118$. Groupe N : moyenne de $3,36 \mu\text{g/L}$ et médiane de $0,27 \mu\text{g/L}$.

4/ Glycémie : Groupe N : moyenne et médiane, respectivement, $3,19$ et $1,06 \mu\text{g/L}$; $N = 116$. Groupe AN : respectivement, $3,36$ et $0,05 \mu\text{g/L}$; $N = 50$. La différence n'est pas significative.

5/ Taux ASAT et ALAT : Il n'existe pas de différence significative entre les deux groupes : $p = 0,17$ et $0,82$, pour les moyennes d'ASAT et d'ALAT ; $p = 0,34$ et $0,63$, pour les médianes.

6/ Paramètres hémobiotiques :

Plaquettes sanguines : Il n'existe pas de différence significative entre les deux groupes ($p = 0,13$, pour la moyenne et $0,51$, pour la médiane). Groupe AN : moyenne = $5,20 \mu\text{g/L}$ et médiane = $4,29 \mu\text{g/L}$; $N = 13$). Groupe N : moyenne = $3,15 \mu\text{g/L}$ et médiane = $0,95 \mu\text{g/L}$; $N = 149$).

Hémoglobine. Groupe N : moyenne = $3,43 \mu\text{g/L}$ et médiane = $1,40 \mu\text{g/L}$; $N = 92$. Groupe AN : moyenne = $3,17 \mu\text{g/L}$ et médiane = $0,49 \mu\text{g/L}$; $N = 70$). La différence n'est pas significative ($p = 0,73$ et $0,65$).

Leucocytes. Groupe AN : moyenne = $3,47 \mu\text{g/L}$ et médiane = $1,06 \mu\text{g/L}$; $N = 41$. Groupe N : moyenne = $3,26 \mu\text{g/L}$ et médiane = $0,89 \mu\text{g/L}$; $N = 121$). La différence n'est pas significative ($p = 0,78$ et $0,74$).

Tableau 32 : Distribution des taux quartiles de BPA total en fonction des groupes sociodémographiques et biologiques. Groupe exposé.

Paramètres	N	Taux de BPA total ($\mu\text{g/L}$)			p value
		Médiane	Quartiles		
			25	75	
Age					
20-29	14	2,22	0,00	3,59	0,01
30-39	48	0,05	0,05	2,82	
40-49	70	0,54	0,05	3,80	
>50	34	4,31	0,05	8,17	
IMC					
16-18,4	3	2,39	0,05	4,78	0,642
18,5-24,9	86	1,32	0,05	4,90	
25-30	70	2,70	0,89	14,83	
>30	7	0,41	0,05	4,96	
Habitation					
Urbaine	142	1,91	0,05	4,40	0,311
Rurale	23	0,75	0,05	5,38	
Tabagisme					
Oui	72	1,65	0,05	6,63	0,332
Non	94	0,56	0,05	3,59	
Alcoolisme					
Oui	9	0,89	0,05	7,78	0,986
Non	157	0,80	0,05	4,90	
Situation familiale					
Marié	149	0,89	0,05	5,58	0,267
Célibataire	17	0,05	0,00	2,41	
Pose d'amalgame dentaire					
Oui	13	2,43	0,05	4,36	0,572
Non	153	0,70	0,05	5,38	
Enfants (chez les sujets mariés)					
Pas d'enfants	18	0,66	0,00	3,84	0,226
Au moins un enfant	135	0,92	0,05	5,46	
Fertilité					
RAS	131	0,54	0,05	4,90	0,433
Infert. primaire	15	2,60	0,05	7,28	
Infert. secondaire	8	0,82	0,05	6,76	
Troubles libido	10	2,57	0,05	4,29	
Troubles éjaculation	2	-	-	-	
Taux FSH					
Normal	111	0,58	0,05	6,11	0,074
Anormal	53	2,19	0,05	4,29	
Taux LH					
Normal	152	0,66	0,05	5,17	0,65
Anormal	11	2,60	0,05	5,48	
Taux testostérone					
Normal	153	0,89	0,05	5,39	0,52
Anormal	10	0,30	0,00	3,76	

Paramètres	N	Taux de BPA total ($\mu\text{g/L}$)			p value
		Médiane	Quartiles		
			25	75	
Niveau d'exposition					
forte	81	1,91	0,05	6,60	<u>0,023</u>
faible	85	0,05	0,05	3,76	
Poste occupé					
Mélange	36	2,24	0,05	5,44	0,123
Moulage	15	4,36	1,44	9,11	
Façonnage	34	0,91	0,05	6,26	
Emballage	40	0,12	0,05	3,84	
Nettoyage	29	0,05	0,05	3,84	
Autres	12	0,03	0,00	0,47	
Années d'expérience					
<5 ans	93	0,05	0,05	3,76	<u>0,001</u>
>5 ans	73	2,58	0,05	6,60	
Protection collective					
Oui	155	1,21	0,05	5,39	0,32
Non	11	0,05	0,00	0,89	
Protection individuelle					
Oui	45	2,38	0,05	6,26	0,21
Non	121	0,45	0,05	4,45	
Horaire de travail					
6-14h	74	0,98	0,05	4,36	0,160
14-22h	55	2,43	0,05	6,04	
22-6h	37	0,05	0,00	4,85	
Moment de prélèvement (journée)					
Début de journée	55	2,43	0,05	6,04	0,076
Fin de journée	111	0,61	0,05	4,45	
Moment de prélèvement (semaine)					
Début de semaine	37	0,05	0,05	2,94	0,185
Milieu de semaine	79	0,89	0,05	6,11	
Fin de semaine	50	2,13	0,05	5,94	
Alimentation au travail					
Oui	53	0,16	0,05	3,59	0,519
Non	113	1,06	0,05	5,53	
Co-exposition					
Solvants	36	2,24	0,05	5,44	0,227
Peinture	32	0,91	0,05	7,22	
Monomère	15	3,21	1,44	8,53	
Aucune	39	0,19	0,05	4,85	

Paramètres	N	Taux de BPA total (µg/L)			p value
		Médiane	Quartiles		
			25	75	
Créatininurie					
Normale	143	1,30	0,05	4,96	0,67
Anormale	20	0,29	0,05	4,63	
Créatininémie					
Normale	145	0,95	0,05	4,96	0,72
Anormale	21	0,61	0,05	4,29	
Taux de cholestérol					
Normal	147	1,06	0,05	5,94	0,029
Anormal	19	0,05	0,00	2,82	
Taux de triglycérides					
Normal	44	0,27	0,05	6,12	0,14
Anormal	118	1,32	0,05	4,45	
Activité ALAT					
Normale	164	0,75	0,05	5,17	0,63
Anormale	2	-	-	-	
Activité ASAT					
Normale	154	0,85	0,05	5,17	0,34
Anormale	12	0,05	0,05	1,91	
Glycémie					
Normale	116	0,83	0,05	4,90	0,26
Anormale	50	0,85	0,00	6,04	
Taux de plaquettes					
Normal	149	0,95	0,05	4,85	0,51
Anormal	13	4,29	0,05	6,65	
Taux de leucocytes					
Normal	121	0,89	0,05	4,90	0,74
Anormal	41	1,06	0,00	6,26	
Taux d'hémoglobine					
Normal	92	1,40	0,05	5,74	0,65
Anormal	70	0,49	0,05	4,26	

E- Antécédents médicaux

Les 19 travailleurs, présentant des antécédents médicaux affichaient, en majorité (plus de 68%) des taux de BPA total élevés, avec une moyenne de 3,08 µg/L et une médiane de 3,09 µg/L (**tableau 33**).

Tableau 33 : Taux urinaire de BPA total des sujets présentant un antécédent médical. Groupe exposé

<i>Numéro d'identification</i>	<i>Antécédent médical</i>	<i>Taux urinaire de BPA total (µg/L)</i>
04	Appendicite	8,53
07	Asthme	4,45
09	Varices œsophagiennes	3,09
13	Asthme	2,94
18	Cardiopathie	0,05
21	Azoospermie	5,48
22	Anxiété	6,11
24	Diabète type 2	6,26
27	Goitre	0,05
29	Anxiété	3,76
32	Hypertension	6,12
51	Surdité-mutisme	2,68
52	Surdité –mutisme	0,05
64	Anxiété	1,47
72	Hernie diaphragmatique	3,21
81	Hypertension	0
136	Hypertension	0,05
147	Asthme	0
160	Anxiété	4,29

II.2. Population non professionnellement exposée au BPA

L'échantillonnage de la population de travailleurs non exposés a porté sur **48 sujets**.

Les résultats des données quantitatives sont exprimés par la moyenne \pm l'écart type ; [valeur minimale - valeur maximale] ; (N=Nombre).

II.2.1. Données socio -médico-démographiques

II.2.1.1. Age

La moyenne d'âge est de **36,08 \pm 8,26 ans** ; [21-49 ans] ; (N=48) – (figure 72)

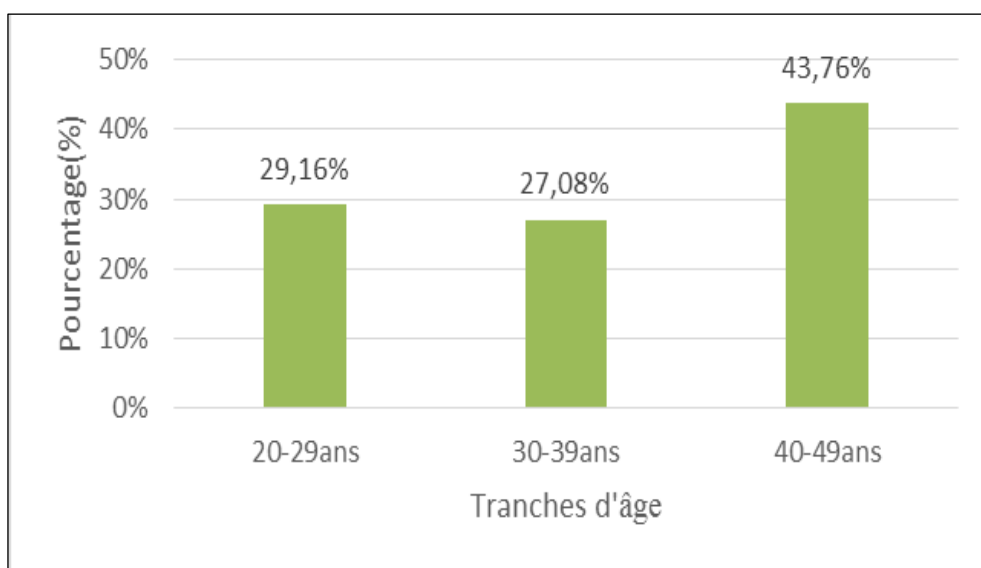


Figure 72 : Répartition des sujets non exposés en fonction de l'âge

II.2.1.2. Poids

Le poids moyen est de **77,60 \pm 7,94 kg** ; [59-96 kg] ; (N=48)

II.2.1.3. Taille

La taille moyenne est de **1,76 \pm 0,08 m** ; [1,60-1,90 m] ; (N=48)

II.2.1.4. Indice de masse corporelle (IMC)

La moyenne de l'IMC est de **25,11 \pm 3,16 kg/m²** ; [17,34-34,37 kg/m²] ; (N=48) - (figure 73)

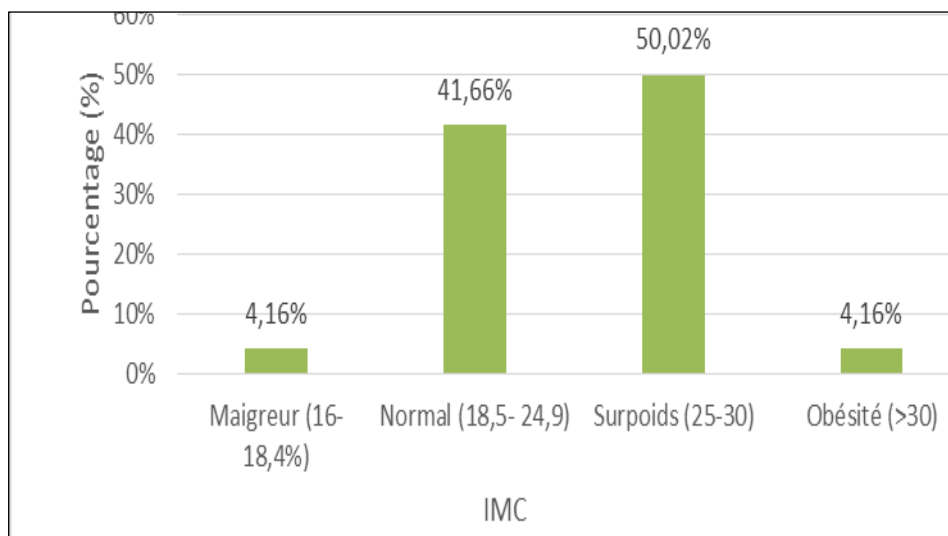


Figure 73 : Répartition des sujets non exposés en fonction de l’index masse corporelle

II.2.1.5. Lieu d’habitation.

83,33% des sujets habitent en zone urbaine.

II.2.1.6. Situation familiale

79,16 % des sujets sont mariés.

II.2.1.7. Nombre d’enfants (chez les sujets mariés)

La moyenne du nombre d’enfants est de **1,74 ± 0,97 enfant** ; [0-4 enfant] ; (N=48) - (figure 74)

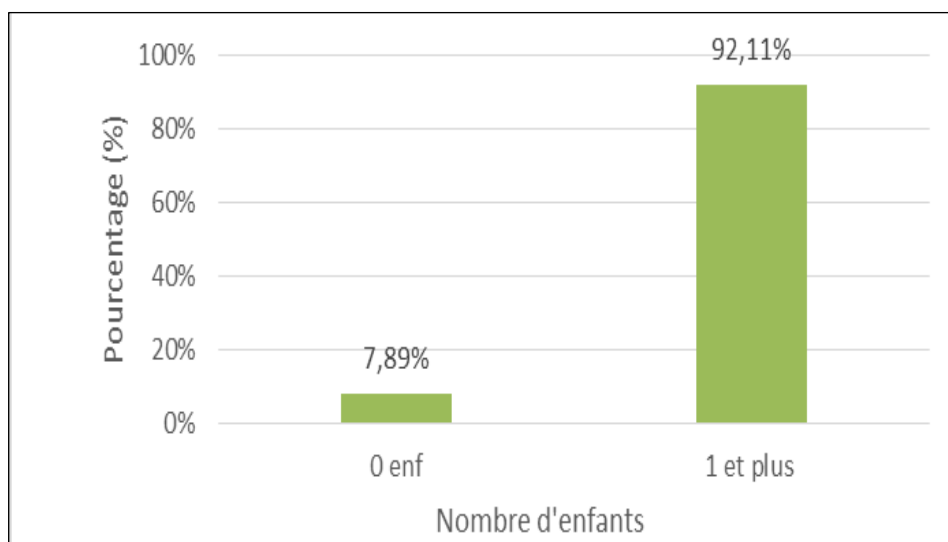


Figure 74 : Répartition des sujets non exposés en fonction du nombre d’enfants

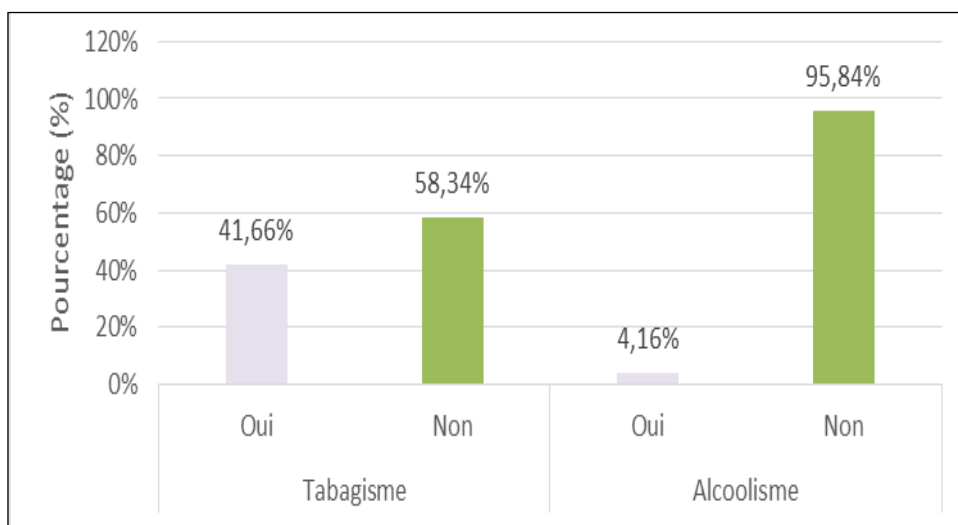
II.2.1.8. Tabagisme et alcoolisme (figure 75)

Figure 75 : Répartition des sujets non exposés en fonction du tabagisme et de l'alcoolisme

II.1.2.10. Pose récente de composite dentaire

6,25% des sujets déclarent la pose récente (moins de 1 an) d'un composite dentaire.

II.1.2.11. Particularités d'ordre sexuel

93,76% des sujets déclarent n'avoir aucun trouble d'ordre sexuel

II.2.2. Données biologiques et toxicologiques**II.2.2.1. Taux de créatinine urinaire**

La moyenne du taux de créatinine urinaire est de **1,08 ± 0,51 g/L** ; [0,12-1,99] ; (N=48)

89,58% des sujets présentent une créatininurie dans les normes

Les taux supérieurs aux normes vont de 1,89 à 1,99 g/L

II.2.2.2. Taux de créatinine sanguine

La moyenne du taux de créatinine sanguine est de **10,27 ± 2,79 mg/L** ; [5,87-19,98] ; (N=45)

15,56 % des sujets présentent une créatininémie supérieure à la norme : les taux vont de 12,09 à 19,98 mg/L.

II.2.2.3. Taux de glycémie à jeun

La moyenne du taux de glycémie est de **0,85 ± 0,15 g/L** ; [0,7-1,00] ; (N=47)

II.2.2.4. Taux de cholestérol

La moyenne du taux de cholestérol est de **1,61 ± 0,43 g/L** ; [0,97-3,07] ; (N=44)

Seulement 13,63% des sujets présentent un taux de cholestérol anormal (> 2g/L) : les taux vont de 2,03 à 3,07 g/L.

II.2.2.5. Taux de triglycérides

La moyenne du taux de triglycérides est de **1,50 ± 0,30 g/L** ; [1,06-2,62] ; (N=48)

41,67 % des sujets présentent un taux de triglycérides supérieur à la norme, les taux vont de 1,31 à 2,62 g/L.

II.2.2.6. Activité d'ALAT

La moyenne du taux d'activité d'ALAT est de **18,41 ± 5,61 UI/L** ; [11,59 - 39,23] ; (N=46)

Tous les sujets présentent des taux normaux.

II.2.2.7. Activité d'ASAT

La moyenne du taux d'activité d'ASAT est de **29,22 ± 7,29 UI/L** ; [12,76 - 43,67] ; (N=48)

Tous les sujets présentent des taux normaux.

II.2.2.8. Taux de FSH

La moyenne du taux de FSH sanguine est de **10,89± 4,49 mUI/mL** ; [1,70 – 22,87] ; (N=48)- (figure 76)

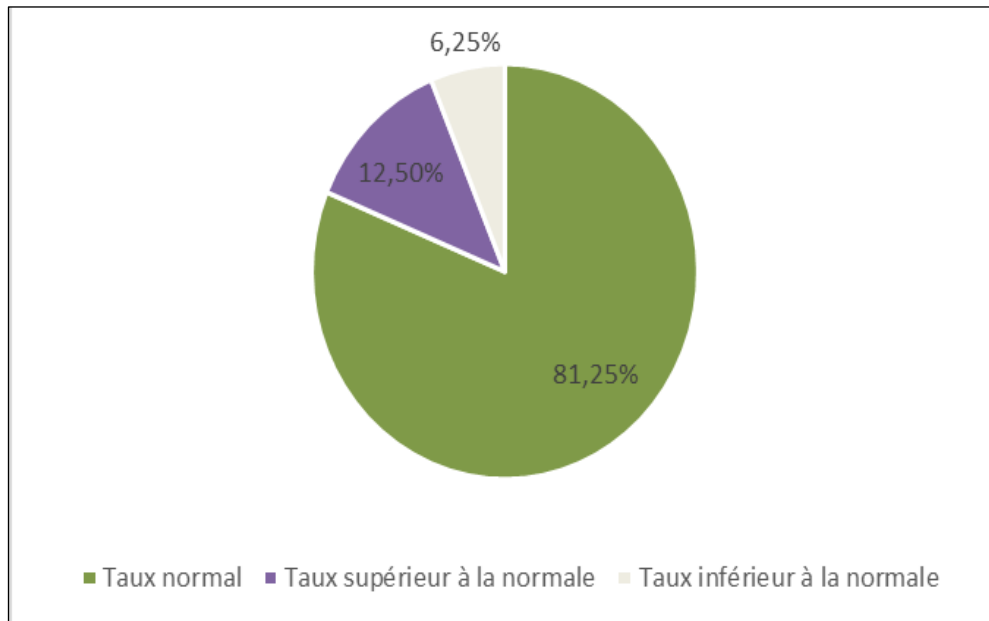


Figure 76 : Répartition des sujets non exposés en fonction du taux de FSH

- Les taux inférieurs aux normes vont de 2,80 à 1,70 mUI/mL
- Les taux supérieurs aux normes vont de 15,65 à 22,87 mUI/mL

II.2.2.9. Taux de LH

La moyenne du taux de LH est de **4,60 ± 2,90 mUI/mL** ; [1,36– 12,87] ; (N=45) – (figure 77)

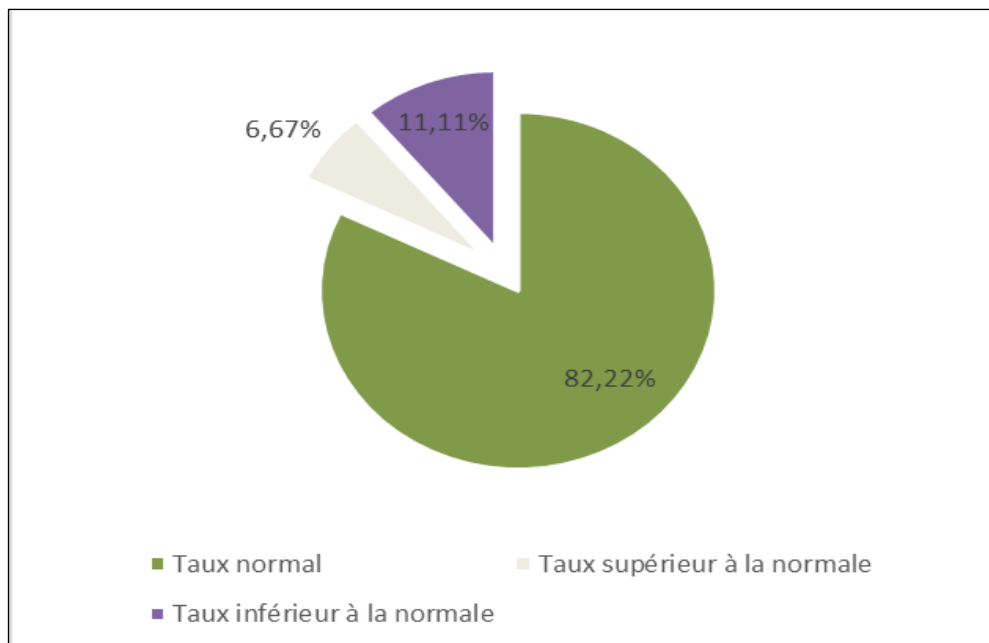


Figure 77 : Répartition des sujets non exposés en fonction du taux de LH

- Les taux inférieurs aux normes vont de 1,98 à 1,36 mUI/mL
- Les taux supérieurs aux normes vont de 12,42 à 12,87 mUI/mL

II.2.2.10. Taux de testostérone

La moyenne du taux de testostérone sanguine est de $6,01 \pm 2,77$ mUI/mL ; [2,74 – 14,31] ; (N=47) – (figure 78)

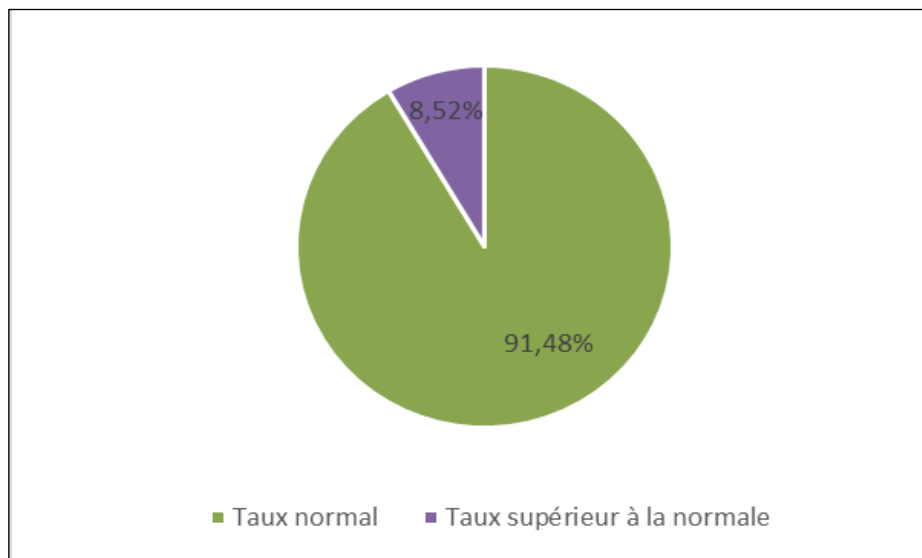


Figure 78 : Répartition des sujets non exposés en fonction du taux de testostérone

- Les taux supérieurs aux normes vont de 13,30 à 14,31 mUI/mL

II.2.2.11. Taux de plaquettes sanguines

La moyenne du taux de plaquettes sanguines est de $167,58 \pm 19,57$ $10^3/\mu\text{L}$; [123-209] 10^3 ; (N=48)

81,25 % des sujets présentent des taux normaux de plaquettes sanguines

Les taux inférieurs aux normes vont de 123 à 147 $10^3/\mu\text{L}$

II.2.2.12. Taux de leucocytes

La moyenne du taux de globules blancs est de $9,25 \pm 2,48$ $10^3/\mu\text{L}$; [5,40- 13,90] 10^3 ; (N=48)

66,66 % des sujets présentent des taux normaux de leucocytes.

Les taux supérieurs aux normes vont de 10,65 à 13,90 $10^3/\mu\text{L}$

II.2.2.13. Taux d'hémoglobine

La moyenne du taux d'hémoglobine est de $13,38 \pm 1,47$ g/dL ; [9,90 - 16,01] ; (N=48)

45,83 % des sujets présentent des taux d'hémoglobine inférieurs aux normes, qui vont de 13,20 à 9,90 g/dL.

II.2.2.14. Taux urinaires des bisphénols (tableau 34)**Tableau 34** : Taux bruts et corrigés de BPA total et libre. Sujets non exposés.

	Taux de BPA total (µg/L)	Taux de BPA total / créatinine (µg/g)	Taux de BPA libre (µg/L)	Taux de BPA libre / créatinine (µg/g)
Nombre d'échantillons analysés	48	48	47	47
Nombre d'échantillons où le bisphénol est détecté (pourcentage)	33 (68,75 %)		21 (43,75%)	
Moyenne	1,00	1,47	0,09	0,15
Ecart type	1,74	3,69	0,24	0,48
[Valeur minimale – valeur maximale]	[ND -8,87]	[ND - 23,08]	[ND – 1,22]	[ND -2,90]
Médiane	0,05	0,05	0	0
Percentiles				
25	0	0	0	0
50	0,05	0,05	0	0
75	1,53	1,60	0	0

ND : non détecté (< LD)

II.2.3. Données statistiques

II.2.3.1. Données de corrélation entre les taux de BPA et les variables sociodémographiques et biochimiques (tableau 35).

Tableau 35 : Données de corrélation (Pearson) entre les taux urinaires de BPA total et les différentes variables d'intérêt. Sujets non exposés

		BPA total	BPA total /créatinine
Age	r	0,198	0,222
	Sig.	0,177	0,130
Poids	r	0,033	-0,025
	Sig.	0,825	0,866
Taille	r	0,030	0,214
	Sig.	0,825	0,143
IMC	r	0,001	-0,323
	Sig.	0,996	0,250
Créatinine urinaire	r	0,032	-
	Sig.	0,828	-
FSH	r	-0,214	-0,008
	Sig.	0,143	0,958
LH	r	0,040	-0,021
	Sig.	0,795	0,892
Testostérone	r	-0,147	0,053
	Sig.	0,325	0,723

		BPA total	BPA total /créatinine
Glycémie	r	-0,102	-0,091
	Sig.	0,497	0,541
Créatinine sanguine	r	0,091	0,309
	Sig.	0,553	0,039
Cholestérol	r	0,138	-0,005
	Sig.	0,371	0,972
Triglycérides	r	-0,161	-0,152
	Sig.	0,281	0,306
ALAT	r	-0,105	0,012
	Sig.	0,486	0,936
ASAT	r	0,056	-0,040
	Sig.	0,486	0,787
Plaquettes sanguines	r	-0,140	-0,175
	Sig.	0,344	0,233
Leucocytes	r	-0,249	-0,260
	Sig.	0,087	0,084
BPA total /créatinine	r	0,85	-
	Sig.	0,001	-

Il n'existe pas de corrélation significative entre les taux de BPA total et les données sociodémographiques.

Il n'existe pas de corrélation significative entre les taux de BPA total et les données biologiques.

II.2.3.2. Données comparatives des moyennes et des médianes de BPA total en rapport avec les variables sociodémographiques et biologiques (tableaux 36 et 37)

Tableau 36 : Données comparatives des moyennes de BPA total en fonction des variables sociodémographiques et biologiques. Groupe témoin

Paramètres	Groupes	N**	BPA total moyenne \pm ET ($\mu\text{g/L}$)	p value
Données sociodémographiques et mode de vie				
Age (années)	20-29	14	0,61 \pm 1,02	0,236
	30-39	13	0,63 \pm 1,10	
	40-49	21	1,49 \pm 2,29	
	≥ 50	-	-	
IMC	16-18,4	2	0,78 \pm 0,14	0,711
	18,5-24,9	20	0,97 \pm 1,61	
	25-30	24	1,18 \pm 1,96	
	>30	2	0,14 \pm 0,12	
Habitation	Urbaine	40	0,98 \pm 1,79	0,817
	Rurale	8	1,13 \pm 1,53	
Tabagisme	Oui	20	0,74 \pm 1,44	0,388
	Non	28	1,19 \pm 1,93	
Alcoolisme	Oui	2	0,88 \pm 1,24	0,918
	Non	46	1,01 \pm 1,76	
Situation familiale	Marié	38	0,88 \pm 1,44	0,790
	Célibataire	10	1,04 \pm 1,82	
Pose récente de composite dentaire	Oui	3	0,03 \pm 0,02	0,01
	Non	45	1,07 \pm 1,78	
Données sur la fertilité				
Nombre d'enfants (chez les sujets mariés)	0	3	0	-
	1 et plus	35	1,16 \pm 1,88	
Vie sexuelle et fertilité	RAS	45	0,92 \pm 1,72	0,282
	Infertilité primaire	1	3,27*	
	Infertilité secondaire	1	0*	
	Troubles de la libido	1	3,31*	
	Troubles de l'éjaculation	0	-	
Taux de FSH	Normal	39	0,99 \pm 1,81	0,901
	Anormal	9	1,07 \pm 1,46	
Taux de LH	Normal	37	1,11 \pm 1,88	0,007
	Anormal	8	0,16 \pm 0,39	
Taux de testostérone	Normal	43	0,96 \pm 1,75	0,918
	Anormal	4	0,87 \pm 1,60	

Paramètres	Groupes	N**	Taux BPA total Moyenne ± ET (µg/L)	p value
Données biologiques				
Créatininurie	Normale	43	1,00 ± 1,78	0,929
	Anormale	05	1,06 ± 1,45	
Créatininémie	Normale	38	0,75 ± 1,11	0,247
	Anormale	7	2,47 ± 3,54	
Taux de cholestérol	Normal	38	0,60 ± 0,97	0,283
	Anormal	6	2,31 ± 3,48	
Taux de triglycérides	Normal	28	0,70 ± 2,08	0,723
	Anormal	20	1,22 ± 0,88	
Activité ALAT	Normale	46	1,00 ± 1,77	-
	Anormale	0	-	
Activité ASAT	Normale	48	1,03 ± 1,74	-
	Anormale	0	-	
Glycémie	Normale	47	0,85 ± 1,79	-
	Anormale	0	-	
Taux de plaquettes	Normal	39	0,96 ± 1,83	0,748
	Anormal	9	1,27 ± 1,32	
Taux de leucocytes	Normal	32	0,47 ± 0,82	0,076
	Anormal	16	1,17 ± 2,01	
Taux d'hémoglobine	Normal	22	0,72 ± 1,17	0,306
	Anormal	26	1,24 ± 2,09	

* Valeur individuelle

** Le nombre de sujets, dans chaque groupe, peut ne pas correspondre au nombre total, en raison de valeurs manquantes.

Les autres bisphénols : BPB, BPS, BPZ, BPP, BPE, BPAF, BPAP n'ont pas été détectés dans l'ensemble de l'échantillon des sujets non exposés.

.

Tableau 37 : Distribution des taux quartiles de BPA total en fonction des variables sociodémographiques et biologiques. Sujets non exposés.

Paramètres	N	Taux de BPA ($\mu\text{g/g}$)			p value
		Médiane	Quartiles		
			25th	75th	
Données sociodémographiques et mode de vie					
Age					
20-29	14	0,05	0,00	1,57	0,48
30-39	13	0,05	0,00	0,67	
40-49	21	0,05	0,05	2,56	
>50	0	-	-	-	
IMC					
16-18,4	2	-	-	-	0,22
18,5-24,9	20	0,05	0,00	1,13	
25-30	24	0,23	0,05	1,56	
>30	2	-	-	-	
Habitation					
Urbaine	40	0,05	0,00	1,36	0,88
Rurale	8	0,11	0,00	2,67	
Tabagisme					
Oui	20	0,05	0,00	1,17	0,34
Non	28	0,13	0,03	2,01	
Alcoolisme					
Oui	2	-	-	-	0,93
Non	46	0,05	0,00	1,45	
Situation familiale					
Marié	38	0,05	0,00	1,45	0,60
Célibataire	10	0,05	0,00	1,76	
Pose dentaire					
Oui	3	0,05	0,00	0,05	0,36
Non	45	0,05	0,00	1,56	
Données de fertilité					
Enfants (chez les sujets mariés)					
Pas d'enfants	3	-	-	-	-
Au moins un enfant	35	0,05	0,00	1,56	
Fertilité					
RAS	45	0,05	0,00	1,27	-
Infertilité primaire	1	-	-	-	
Infertilité secondaire	1	-	-	-	
Troubles libido	1	-	-	-	
Troubles éjaculation	0	-	-	-	
Taux FSH					
Normal	39	0,05	0,00	1,45	0,87
Anormal	9	0,05	0,00	2,26	
Taux LH					
Normal	37	0,05	0,00	1,56	0,10
Anormal	8	0,03	0,00	0,05	
Taux testostérone					
Normal	43	0,05	0,00	1,45	0,78
Anormal	4	0,11	0,00	1,75	

Paramètres	N	Taux de BPA			p value
		Médiane	Quartiles		
			25th	75th	
Données biologiques					
Créatininurie					
Normale	43	0,05	0,00	1,45	0,76
Anormale	05	0,21	0,05	1,76	
Créatininémie					
Normale	38	0,05	0,00	1,27	0,77
Anormale	7	0,05	0,00	5,65	
Taux de cholestérol					
Normal	38	0,05	0,00	1,12	0,33
Anormal	6	0,74	0,00	3,56	
Taux de triglycérides					
Normal	28	0,05	0,00	1,86	0,5
Anormal	20	0,05	0,00	1,35	
Activité ALAT					
Normale	46	0,05	0,00	1,56	-
Anormale	0	-	-	-	
Activité ASAT					
Normale	48	0,05	0,00	1,51	-
Anormale	0	-	-	-	
Glycémie					
Normale	47	0,05	0,00	1,61	-
Anormale	0	-	-	-	
Taux de plaquettes					
Normal	39	0,05	0,00	1,45	0,55
Anormal	9	0,89	0,00	2,26	
Taux de leucocytes					
Normal	32	0,05	0,00	0,56	0,36
Anormal	16	0,05	0,00	1,71	
Taux d'hémoglobine					
Normal	22	0,05	0,00	1,13	0,37
Anormal	26	0,13	0,00	1,56	

Age : Les sujets âgés de plus de 40 ans présentent un taux moyen de BPA (1,49 µg/L ; N=21) supérieur à celui des autres tranches d'âge (0,61 µg/L ; N=14 et 0,63 µg/L ; N=13).

IMC : Les sujets, présentant un IMC de 25-30 (surpoids), affichent un taux moyen de BPA (1,18 µg/L ; N= 24) supérieur à celui des d'IMC inférieur. Il en est de même pour la médiane (0,23 µg/L ; N= 24). La différence n'est pas significative (p=0,23 pour la moyenne et p=0,71 pour la médiane).

Vie sexuelle : Les sujets présentant un trouble de l'infertilité primaire (N=1) ou de la libido (N=1) présentent , respectivement , un taux de BPA de 3,27 µg/L et de 3,31 µg/L, supérieur à celui des sujets déclarant n'avoir aucun trouble (taux moyen de BPA = 0,92 µg/L). La différence n'étant toutefois non significative (p = 0,28).

Taux de FSH : Le taux moyen de BPA (1,07 µg/L ; N= 9) est plus élevé, chez les sujets présentant des taux de FSH supérieurs à la normale par rapport aux sujets présentant des taux normaux (0,99 µg/L ; N= 39).

Une différence analogue est observée pour les quartiles 75, respectivement, 2,26 µg/L (N= 9), et 1,45 µg/L (N= 39), sans significativité, ni pour la moyenne, ni pour la médiane.

Taux de LH : Les sujets ayant un taux de LH normal, présentent un taux moyen de BPA (1,11 µg/L ; N= 37) et un quartile 75 (1,56 µg/L ; N=37) supérieurs à ceux des sujets dont le taux de LH est anormal (moyenne = 0,16µg/L et quartile 75 = 0,05 µg/L). La différence est significative pour la moyenne (p= 0,007) et non significative pour la médiane (p= 0,1).

Taux de cholestérol : Les taux de BPA sont supérieurs chez les sujets présentant une hypercholestérolémie (moyenne = 2,31 µg/L et médiane = 0,74 µg/L ; N= 6) par rapport à ceux dont la cholestérolémie est normale (moyenne = 0,60 µg /L et médiane = 0,05 µg/L ; N=38). La différence n'est pas significative (p = 0,28 pour la moyenne et p = 0,33 pour la médiane), en raison, probablement, de l'effectif réduit du premier groupe.

Taux de triglycérides : Les taux de BPA sont supérieurs chez les sujets présentant un taux élevé de TG (moyenne =1,22 µg/L ; N= 20), rapportés à ceux des sujets affichant des valeurs normales (moyenne = 0,70 µg /L ; N= 28). Les médianes sont équivalentes dans les deux groupes (0,05 µg/L). La différence n'est pas significative.

Antécédents médicaux : parmi les sujets non exposés, seulement trois travailleurs présentaient un antécédent médical (appendicite avec un taux de BPA total de 0,05 µg/L, HTA avec un taux de BPA < LD, asthme avec un taux de 1,76 µg/L).

II.3. Données et statistiques comparatives des deux groupes de travailleurs

II.3.1. Comparaison des médianes

Pour établir la différence entre les valeurs médianes des deux groupes, le test U de Mann-Whitney a été utilisé (tableau 38).

Tableau 38 : Paramètres comparatifs des quartiles chez les travailleurs exposés et non exposés.

Données	Groupe exposé	Groupe témoin	p value
Age (Années)			
Minimum	23	21	0,001
1er quartile	35,75	28	
Médiane	44	37,5	
3ème quartile	48	43	
Maximum	60	49	
Taille (cm)			
Minimum	157	160	0,291
1er quartile	173	168	
Médiane	178	176	
3ème quartile	185	185	
Maximum	173	190	
Poids (Kg)			
Minimum	55	59	0,936
1er quartile	69	71,25	
Médiane	78	78	
3ème quartile	65	82,75	
Maximum	101	96	
IMC (Kg/m²)			
Minimum	16,01	17,34	0,251
1er quartile	22,44	23,63	
Médiane	24,64	25,3	
3ème quartile	26,53	26,61	
Maximum	39,06	34,37	
Nombre d'enfants (chez les sujets mariés)			
Minimum	0	0	0,001
1er quartile	1	1	
Médiane	3	2	
3ème quartile	4	2	
Maximum	6	4	
BPA total (µg/L)			
Minimum	0	0	0,004
1er quartile	0,05	0	
Médiane	0,84	0,05	
3ème quartile	5,06	1,53	
Maximum	21,35	8,87	
BPA total ajusté (µg/g)			
Minimum	0	0	0,006
1er quartile	0,03	0	
Médiane	0,67	0	
3ème quartile	5,64	1,46	
Maximum	49,65	9,05	

Données	Groupe exposé	Groupe témoin	p value
BPA libre (µg/L)			
Minimum	0	0	-
1er quartile	0	0	
Médiane	0	0	
3ème quartile	0,05	0,05	
Maximum	13,09	1,22	
BPA libre ajusté (µg/g)			
Minimum	0	0	-
1er quartile	0	0	
Médiane	0	0	
3ème quartile	0,05	0	
Maximum	17,22	0	
FSH (mUI /mL)			
Minimum	0,87	1,7	0,001
1er quartile	2,87	8,62	
Médiane	4,4	11,87	
3ème quartile	8,20	13,64	
Maximum	28,1	22,87	
LH (mUI /mL)			
Minimum	1,36	1,36	0,504
1er quartile	3,01	2,87	
Médiane	4,09	3,73	
3ème quartile	5,1	5,33	
Maximum	12,42	12,87	
Testostérone (mUI /mL)			
Minimum	2,13	2,74	0,99
1er quartile	4,1	3,8	
Médiane	5,24	5,2	
3ème quartile	6,8	7,34	
Maximum	13,57	14,31	
Glycémie (g/L)			
Minimum	0,58	0,70	0,024
1er quartile	0,76	0,76	
Médiane	0,87	0,79	
3ème quartile	1,03	0,89	
Maximum	2,64	1,00	
Créatinine urinaire (g/L)			
Minimum	0,32	0,12	0,927
1er quartile	0,76	0,74	
Médiane	0,98	0,99	
3ème quartile	1,54	1,55	
Maximum	1,99	1,99	

Données	Groupe exposé	Groupe témoin	p value
Créatinine sanguine (mg/L)			
Minimum	7,21	5,87	0,280
1er quartile	9,25	8,5	
Médiane	10,16	9,56	
3ème quartile	11,27	11,39	
Maximum	19,26	19,98	
Triglycérides (g/L)			
Minimum	1,06	1,06	0,003
1er quartile	1,45	1,27	
Médiane	1,65	1,43	
3ème quartile	1,78	1,65	
Maximum	2,98	2,62	
Cholestérol (g/L)			
Minimum	0,36	0,97	0,767
1er quartile	1,36	1,35	
Médiane	1,55	1,54	
3ème quartile	1,78	1,77	
Maximum	3,07	3,07	
ASAT (U/L)			
Minimum	12,76	12,76	0,440
1er quartile	24,62	23,78	
Médiane	27,51	27,92	
3ème quartile	31,02	35,94	
Maximum	76,22	43,67	

Données	Groupe exposé	Groupe témoin	p value
ALAT (U/L)			
Minimum	9,6	11,59	0,109
1er quartile	16,1	13,65	
Médiane	18,51	17,93	
3ème quartile	22,28	21,47	
Maximum	48,17	39,23	
Hémoglobine (g/dL)			
Minimum	8,79	9,9	0,230
1er quartile	12,8	12,54	
Médiane	13,7	12,85	
3ème quartile	14,7	14,68	
Maximum	16,2	16,01	
Globules blancs ($10^3/\mu\text{L}$)			
Minimum	4,7	5,4	0,167
1er quartile	6,7	7,5	
Médiane	8	8,7	
3ème quartile	10,2	11,67	
Maximum	15,98	13,9	
Plaquettes sanguines ($10^3/\mu\text{L}$)			
Minimum	123	123	0,001
1er quartile	185,75	156	
Médiane	212	167	
3ème quartile	259,5	184	
Maximum	390	209	

II.3.2. Comparaison des moyennes

Le test **t de student** révèle une différence significative entre les moyennes des deux groupes, tout comme pour les médianes, dans le cas de l'âge, le nombre d'enfants, le taux urinaire de BPA total, le taux de FSH, de glycémie à jeun, de triglycérides et de plaquettes sanguines. (Tableau 39)

Tableau 39 : Paramètres comparatifs des moyennes chez les travailleurs exposés et non exposés

Paramètres	Travailleurs professionnellement exposés	Travailleurs non professionnellement exposés	p value
Age (années)	42,67 ± 8,73	36,08 ± 8,26	<u>0,001</u>
Poids (kg)	77,58 ± 9,99	77,60 ± 7,94	0,98
Taille (m)	1,77 ± 0,08	1,76 ± 0,08	0,30
IMC	24,65 ± 3,20	25,11 ± 3,16	0,37
Nombre d'enfants	2,50 ± 1,5	1,74 ± 0,97	<u>0,001</u>
BPA total (µg/L)	3,24 ± 4,66	1,00 ± 1,74	<u>0,001</u>
BPA total corrigé (µg/g)	3,70 ± 6,44	1,46 ± 3,69	<u>0,02</u>
BPA libre (µg/L)	0,31 ± 1,4	0,09 ± 0,24	0,12
BPA libre corrigé (µg/g)	0,41 ± 1,99	0,15 ± 0,48	0,43
FSH (mUI /mL)	5,89 ± 4,28	10,89 ± 4,49	<u>0,001</u>
LH (mUI /mL)	4,42 ± 2,12	4,60 ± 2,90	0,65
Testostérone (mUI /mL)	5,81 ± 2,25	6,01 ± 2,77	0,65
Glycémie à jeun (g/L)	0,93 ± 0,27	0,85 ± 0,15	<u>0,01</u>
Créatinine sanguine (mg/L)	10,21 ± 1,58	10,27 ± 2,79	0,89
Cholestérol (g/L)	1,60 ± 0,39	1,61 ± 0,43	0,92
Triglycérides (g/L)	1,68 ± 0,35	1,50 ± 0,30	<u>0,001</u>
ALAT (U/L)	20,21 ± 6,84	18,41 ± 5,61	0,07
ASAT (U/L)	28,57 ± 7,20	29,22 ± 7,29	0,65
Plaquettes sanguines (10 ^{e3} /uL)	222,70 ± 55,5	167 ± 19,57	<u>0,001</u>
Leucocytes (10 ^{e3} /uL)	8,55 ± 2,39	9,25 ± 2,48	0,13
Taux d'hémoglobine (g/dL)	13,52 ± 1,60	13,38 ± 1,47	0,57

II.3.3. Comparaison des effectifs (pourcentages) attachés aux variables

Pour tester la différence entre les pourcentages, attachés aux variables des deux groupes, le test de **khi-deux** a été utilisé.

II.3.3.1. Facteurs de risque et facteurs d'exposition générale (Tableau 40)

Aucune différence significative n'a été notée pour les facteurs de risque (tabagisme, alcoolisme, IMC), ni pour les facteurs d'exposition générale (pose récente d'amalgame dentaire, zone d'habitation).

Tableau 40 : Données descriptives des effectifs des deux groupes de travailleurs. Facteurs de risque et facteurs d'exposition générale

Variables	Effectif (pourcentage)			p value	
	Sujets non exposés	Sujets exposés	Total		
Facteurs de risque					
Tabagisme	Oui	20 (42%)	74 (43,5%)	94 (43%)	0,818
	Non	28 (58%)	96 (56,5%)	124 (57%)	
	Total	48	170	218	
Alcoolisme	Oui	2 (4,2%)	9 (5,3%)	11 (5%)	0,753
	Non	46 (95,8%)	161 (94,7%)	207 (95%)	
	Total	48	170	218	
IMC	Normal	20 (41,7%)	91 (53,5%)	111 (50,9%)	0,143
	Anormal	28 (58,3%)	79 (46,5%)	107 (49,1%)	
	Total	48	170	218	
Facteurs d'exposition générale					
Pose amalgame dentaire	Oui	3 (6,2%)	13 (7,6%)	16 (7,3%)	0,743
	Non	45 (93,8%)	157 (92,4%)	202 (92,7%)	
	Total	48	170	218	
Habitation	Rurale	8 (16,7%)	24 (14,2%)	32 (14,7%)	0,671
	Urbaine	40 (83,3)	145 (85,8)	185 (85,3)	
	Total	48	169	217	

II.3.3.2. Données biologiques et de fertilité (Tableau 41)

Tout comme pour les médianes et les moyennes, il existe une différence significative, d'un groupe à l'autre, entre les effectifs attachés aux troubles de la fertilité, au taux de FSH, à la glycémie à jeun et aux triglycérides.

Tableau 41 : Dysfonctionnements biologiques. Sujets exposés et non exposés. Effectif et pourcentages

		Exposés		Non exposés		Total		p value Khi-deux
		Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%	
Avoir des enfants (chez les sujets mariés)	Non	18	11,77	3	7,9	18	9,42	0,363
	Oui	135	88,23	35	92,10	173	90,58	
	Total	153	100	38	100	191	100	
Troubles de la fertilité	Oui	37	21,71	3	6,3	40	18,34	0,008
	Non	133	78,29	45	93,8	178	81,66	
	Total	170	100	48	100	218	100	
FSH	Anormal	53	31,5	9	18,8	62	28,7	0,058
	Normal	115	68,5	39	81,2	154	71,3	
	Total	168	100	48	100	216	100	
LH	Anormal	11	6,6	8	17,8	19	9	0,260
	Normal	156	93,4	37	82,2	193	91	
	Total	167	100	45	100	212	100	
Testostérone	Anormal	10	6	4	8,5	14	6,5	0,369
	Normal	157	94	43	91,5	200	93,5	
	Total	167	100	47	100	214	100	
Créatinine sanguine	Anormal	21	12,4	7	15,6	28	13	0,363
	Normal	149	87,6	38	84,4	187	87	
	Total	170	100	45	100	215	100	
Glycémie	Anormal	51	30	0	0	51	23,8	0,001
	Normal	119	70	47	100	163	76,2	
	Total	170	100	47	100	214	100	
Cholestérol	Anormal	20	11,8	6	13,6	26	12,1	0,453
	Normal	150	88,2	38	86,4	188	87,9	
	Total	170	100	44	100	214	100	
Triglycérides	Anormal	121	72,9	20	41,7	145	66,5	0,001
	Normal	45	27,1	28	58,3	73	33,5	
	Total	166	100	48	100	218	100	
ALAT	Anormal	2	1,2	0	0	2	0,9	0,619
	Normal	168	98,8	46	100	214	99,1	
	Total	170	100	46	100	216	100	
ASAT	Anormal	12	7,5	0	0	12	5,50	0,607
	Normal	158	92,5	48	100	206	94,5	
	Total	170	100	48	100	218	100	
Plaquettes sanguines	Anormal	13	7,8	9	18,8	22	10,3	0,332
	Normal	153	92,2	39	81,3	192	89,7	
	Total	166	100	48	100	214	100	
Leucocytes	Anormal	42	25,3	16	33,3	58	27,1	0,179
	Normal	124	74,7	32	66,7	156	72,9	
	Total	166	100	48	100	214	100	
Hémoglobine	Anormal	71	42,8	26	54,2	97	45,3	0,109
	Normal	95	57,2	22	45,8	117	54,7	
	Total	166	100	48	100	214	100	

II.4. Estimation de l'odds ratio

Pour tenter d'évaluer le risque de survenue de dysfonctionnements biologiques, chez les sujets exposés, nous avons eu recours à l'odds ratio.

L'odds ratio (OR), également, appelé rapport des chances, rapport des cotes ou risque relatif rapproché, est une mesure statistique, souvent utilisée en épidémiologie, exprimant le degré de dépendance entre des variables aléatoires. Il permet de mesurer l'effet d'un facteur sur la survenue d'un événement.

Dans notre cas, il se définit comme le rapport de la cote d'un événement arrivant au groupe des travailleurs exposés, à celle du même événement, arrivant au groupe des travailleurs non exposés au BPA.

La cote ou le risque relatif est défini par le rapport : nombre de sujets du groupe, auxquels arrive l'événement / nombre de sujets du groupe, ne connaissant pas l'événement.

Dans notre contexte, l'événement est, principalement, d'ordre biologique ; il s'agit de la survenue d'une valeur anormale dans les paramètres biochimiques et hémobiologiques. Il peut, également, s'agir d'événement lié à la fertilité.

Le calcul de la cote est effectué comme suit :

	Effectif des sujets professionnellement exposés	Effectif des sujets non exposés
Événement + (valeurs anormales)	A	B
Événement – (valeurs normales)	C	D

Chez les sujets exposés, la cote est donnée par le rapport A/C. Elle correspond, chez les sujets non exposés, au rapport B/D

Le risque de survenue de l'événement est donné par le rapport des cotes :

$$OR = (A/C) / (B/D)$$

L'odds ratio est supérieur ou égal à zéro. L'interprétation varie en fonction de sa valeur par rapport à 1 (**tableau 42**)

Tableau 42 : Interprétation de l'Odds Ratio

Valeur de l'OR	Interprétation
Proche de 1	L'événement est indépendant du groupe
Supérieur à 1	L'événement est plus fréquent dans le premier groupe que dans le second groupe
Très supérieur à 1	L'événement est beaucoup plus fréquent dans le premier groupe que dans le second groupe
Inférieur à 1	L'événement est moins fréquent dans le premier groupe que dans le second groupe.
Proche de zéro	L'événement est beaucoup moins fréquent dans le premier groupe que dans le second groupe.

Le tableau 43 rapporte les Odds Ratio attachés au risque de survenue de dysfonctionnements biologiques, chez les sujets exposés.

Tableau 43 : Risque de survenue de dysfonctionnements biologiques / Sujets exposés et non exposés. Odds Ratio, intervalle de confiance à 95%.

Évènement	Odd ratio	Intervalle de confiance 95%		p value
		Limite Inférieure	Limite Supérieure	
Avoir des enfants	1,55	0,179	2,306	0,363
Troubles de la fertilité	4,17	0,070	5,815	0,008
IMC (risque d'obésité)	0,66	0,351	1,271	0,143
Impact sur les taux de FSH	1,99	0,902	4,420	0,058
Impact sur les taux de LH	0,32	0,023	1,268	0,260
Impact sur les taux de testostérone	0,68	0,205	2,291	0,369
Impact sur la glycémie (risque diabétogène)	Les sujets non exposés présentent, tous, des valeurs normales quand 30% des sujets exposés présentent des taux supérieurs à la norme.			
Impact sur les taux de créatinine sanguine	0,76	0,303	1,933	0,363
Impact sur les taux de cholestérol	0,84	0,317	2,248	0,453
Impact sur les taux de triglycérides	3,88	1,99	7,58	0,001
Impact sur les taux d'ALAT	Les sujets non exposés présentent, tous, des valeurs normales. Seuls deux sujets non exposés présentent des valeurs anormales			
Impact sur les taux d'ASAT	Les sujets non exposés présentent, tous, des valeurs normales. Seuls deux sujets non exposés présentent des valeurs anormales			
Impact sur les taux de plaquettes sanguines	0,36	0,147	0,924	0,332
Impact sur les taux de leucocytes	0,67	0,338	1,357	0,179
Impact sur les taux d'hémoglobine	0,63	0,332	1,206	0,109

Les valeurs d'Odds Ratio, supérieures à 1 et significatives ($p < 0,05$), concernent les troubles de la fertilité, le taux de FSH, le taux de triglycérides. A ces paramètres, pourrait être adjointe la glycémie.

II.5. Résumé des résultats de l'étude épidémiologique (tableau 44)

Tableau 44 : Résumé des résultats de l'étude épidémiologique

Paramètres	Sujets exposés	Sujets non exposés
Paramètres sociodémographiques		
Age	Sujets > 50 ans : BPA total * ↑ Corrélation positive * : Age / BPA libre (r = 0,23 ; p = 0,02)	Sujets âgés de 40-49 ans : BPA↑
IMC	Sujets en surpoids et obèses : BPA ↑ (non significatif)	Sujets en surpoids: BPA↑ (non significatif)
Habitation	Pas de différence significative : urbaine / rurale	Pas de différence significative
Tabagisme	BPA chez fumeur > * BPA chez non-fumeur (p= 0,06)	Pas de différence significative
Alcoolisme	Pas de différence significative : consommateur / non consommateur.	Pas de différence significative
Situation familiale	Pas de différence significative : marié / célibataire	Pas de différence significative
Pose récente d'amalgame dentaire	Pas de différence significative: sujets porteurs d'amalgame /sujets non porteurs	BPA (non porteur) > * BPA (porteur) - N : 45 Vs 3
Paramètres de fertilité		
Nombre d'enfants	BPA (1 enfant ou plus) > BPA (pas d'enfants) (non significatif - N : 135 Vs 18).	BPA (1 enfant ou plus) > BPA (pas d'enfants) (non significatif - N : 35 Vs 3)
Vie sexuelle	BPA (infertilité primaire ou secondaire) > BPA (RAS) (non significatif)	BPA ↑ (troubles libido et infertilité primaire) (non significatif)
Taux FSH	BPA (FSH normal) < BPA (FSH bas) (N : 115 Vs 53) Corrélation à la limite de la significativité BPA total / FSH (r = 0,14 ; p = 0,06)	BPA (FSH anormale) > BPA (FSH normale) (non significatif - N : 9 Vs 39)
Taux LH	Pas de différence significative : BPA (LH normale) / BPA (LH anormale)	BPA (LH normale) > * BPA (anormale) (p= 0,007 N : 37 Vs 8)
Taux testostérone	Pas de différence significative : BPA (Testostérone normale) / BPA (Testostérone anormale)	Pas de différence significative
Paramètres professionnels		
Niveau d'exposition	BPA (forte exposition) à la limite de la significativité > BPA (faible exposition) (p= 0,023 pour la médiane)	
Poste occupé	BPA (moulage, mélange, façonnage) > BPA (emballage, recyclage) (non significatif)	
Années de travail	BPA (plus de 5ans) * > BPA (moins de 5ans) (p = 0,001 pour la médiane)	
Horaire de travail	BPA (14h-22h) > BPA (6h-14h) et (22h-6h) (non significatif)	

Tableau 44 (suite) : Résumé des résultats de l'étude épidémiologique

Paramètres	Sujets exposés	Sujets non exposés
Paramètres biologiques		
Créatinine sanguine	BPA (Créat. normale) > BPA (Créat. anormale) (non significatif - N : 145 Vs 21)	BPA (Créat. anormale) > BPA (Créat. normale) (non significatif -N : 7 Vs 38) Corrélation positive * : BPA total ajusté (r = 0,309, p= 0,039)
Glycémie	BPA (Gly. normale) < BPA (Gly. anormale) (non significatif - N : 116 Vs 50)	Valeurs normales
Cholestérol	BPA (Chol. normal) > * BPA (Chol anormal) (non significatif - N : 147 Vs 19, p = 0,03)	BPA (Chol. anormal) > BPA (Chol. normal) (non significatif - N : 6 Vs 38)
Triglycérides	BPA (TG anormal) > BPA (TG normal) (non significatif - N : 118 Vs 44)	BPA (TG anormal) > BPA (TG normal) (non significatif -N : 20 Vs 28)
ASAT	BPA (ASAT normale) > BPA (ASAT anormale) (non significatif - N : 154 Vs 12)	Valeurs normales
ALAT	BPA (ALAT normale) > BPA (ALAT anormale) (non significatif - N : 164 Vs 2)	Valeurs normales
Plaquettes	BPA (Plaq. anormale) > BPA (Plaq. normale) (non significatif - N : 13 Vs 149)	BPA (Plaq. anormale) > BPA (Plaq. normale) (non significatif - N : 9 Vs 39)
Leucocytes	BPA (GB anormal) > BPA (GB normale) (non significatif - N : 41 Vs 121)	BPA (GB normale) > BPA (GB anormal) (non significatif - N : 32 Vs 16)
Hémoglobine	BPA (Hb normale) > BPA (Hb anormale) (non significatif - N : 92 Vs 70)	BPA (Hb anormale) > BPA (Hb normale) (non significatif - N : 26 Vs 22)
Paramètres toxicologiques		
Taux de BPA	Corrélation positive * BPA total / BPA total ajusté (r= 0,87 ; p=0,001) Corrélation positive * BPA total / BPA libre (r= 0,24 ; p= 0,001) Corrélation positive * BPA total / BPA libre ajusté (r=0,21 ; p=0,005)	Corrélation positive * BPA total / BPA total ajusté (r = 0,85 ; p = 0,001)

* : Différence statistiquement significative.

CHAPITRE III : DISCUSSION

Dans les années 2000, les instances scientifiques internationales se sont, sérieusement, penchées sur la question de l'exposition humaine au BPA. Une controverse, qui toucha la puissante Food Drug Administration (FDA), s'installa, alors, quant à l'impact réel de cette exposition sur la santé humaine. Il reste que la question de l'effet néfaste de l'exposition au BPA suscite, toujours, de vives inquiétudes, au sein du public, comme au sein du monde scientifique.

En raison de la large présence du BPA dans l'environnement et dans les produits de consommation, l'un des premiers pays, la France, s'est dotée, en Avril 2014, d'une stratégie nationale sur les perturbateurs endocriniens, de façon générale et, plus particulièrement, sur le BPA, afin de réduire l'exposition de la population, et, notamment, celle des populations sensibles.

Cette stratégie s'articule autour de différents axes comme l'accentuation du soutien à la recherche sur le BPA, la poursuite des démarches de surveillance dans la population et dans l'environnement, la mise en œuvre d'un programme d'expertise sur les substances, la prise en compte du BPA dans la réglementation, et le renforcement de l'information [270].

En 2016, aux États-Unis, l'Environmental Protection Agency (EPA) instaura un programme de recherche sur les perturbateurs endocriniens, «Endocrine Disruptor Screening Program», avec pour objectif d'améliorer leur identification et l'évaluation de leurs effets [300].

En Europe, de nombreux travaux de recherche ont été initiés par la Commission Européenne. En 2014, a été créé, au sein de l'Agence Européenne des Produits Chimiques (ECHA, European Chemicals Agency), un groupe d'études (ED-EG : Endocrine Disruptor Expert Group) pour faciliter l'évaluation des perturbateurs endocriniens. Ce groupe travaille, notamment, sur les substances, visées dans le règlement REACH, dont on peut prévoir qu'elles seront identifiées comme « extrêmement préoccupantes » en raison de leurs propriétés perturbatrices vis-à-vis du système endocrinien [301].

C'est ainsi que le BPA a été identifié, en décembre 2016, par le comité des états membres, en tant que SVHC, du fait de ses propriétés reprotoxiques. Depuis le 16 juin 2017, le bisphénol A, est encore, identifié SVHC, pour ses propriétés de perturbateur endocrinien. De cette décision, résulte l'ajout du BPA à la liste des substances candidates à l'annexe XIV de la réglementation REACH (substances pour lesquelles une autorisation de mise sur le marché de l'Union Européenne, est nécessaire) [130].

La prise de conscience de l'exposition des professionnels aux perturbateurs endocriniens, n'est pas en marge de ces inquiétudes. Dans le troisième « plan santé au travail » français de 2016-2020 (PST3), les perturbateurs endocriniens sont cités comme présentant un risque émergent prioritaire. La prévention de l'exposition aux produits chimiques, et en particulier au BPA, ainsi que l'amélioration des pratiques professionnelles, y figurent parmi les priorités. L'action 1.12 de ce PST3 prévoit de renforcer la connaissance des expositions professionnelles

et de mettre en place une action d'information concernant les perturbateurs endocriniens, les plus identifiés sur les lieux de travail, comme le BPA [302].

Dans le troisième « plan national santé environnement 2015-2019 (PNSE3) », il est préconisé, entre autres actions, de « soutenir, activement, l'adoption d'une définition et de critères réglementaires européens pour les perturbateurs endocriniens » et de mener plusieurs actions sur la thématique du BPA [303].

Dans ce contexte, s'impose, en Algérie, la nécessité d'évaluer l'exposition à ces perturbateurs endocriniens et, notamment, celle concernant le BPA, tant sur le plan général que professionnel ; l'évaluation des niveaux d'exposition permettront l'établissement, dans les meilleurs délais, de stratégies de prévention conformes aux recommandations et aux actions, internationalement, adoptées.

Il faut rappeler que plus de six millions de tonnes de BPA sont produites, par an, et utilisées dans de nombreux produits. L'exposition professionnelle, en rapport avec ces produits, doit être surveillée ; mais également celle de la population générale. En effet, environ 70 % des études ont mis en évidence des effets indésirables significatifs chez des populations, non exposées professionnellement, indiquant qu'une exposition environnementale, à faible dose de BPA, peut avoir des effets nocifs. [174].

D'une manière générale, les perturbateurs endocriniens sont localisés, pour beaucoup d'entre eux, de façon large et ubiquitaire, dans des produits de consommation courante (produits d'entretien, emballages, cosmétiques, plastiques, jouets ...). Ce qui explique que les études d'exposition ont, essentiellement, été réalisées chez la population générale (faible dose). S'agissant du BPA, il est fait le constat qu'en milieu de travail, il y a, relativement, peu d'études spécifiques quant aux conséquences d'une faible exposition, attendu que les expositions sont plus importantes, le plus souvent, multiples et pouvant survenir, plus tardivement, dans la vie des sujets.

Selon la revue de Caporossi *et al.* (2017), se rapportant au bisphénol A et les maladies métaboliques, en médecine du travail [8], il existe, dans la littérature, 15 études sur l'exposition professionnelle au bisphénol A. Dix d'entre elles concernent l'industrie du plastique et de la résine époxy. A la date de 2017, aucun cas constaté d'hypofertilité ou d'issue défavorable de grossesse, n'a été reconnu comme accident du travail ou maladie professionnelle.

La discussion, relative à notre étude, portera, en premier lieu, sur **les niveaux de BPA et sur l'impact de l'exposition au BPA**, chez les deux groupes de sujets, à savoir le groupe de travailleurs, professionnellement, exposés et le groupe des travailleurs non exposés ; seront discutées les associations des taux urinaires de BPA et les différents paramètres sociodémographiques, biologiques et professionnels. Nous rapporterons, ensuite, les résultats du groupe exposé à ceux du groupe non exposé ; ce qui pourrait refléter **le risque de l'exposition au BPA** quant à la santé des sujets, professionnellement, exposés (odds ratio).

III.1. Niveaux d'exposition au BPA et ses analogues

III.1.1. Niveaux d'exposition au BPA

III.1.1.1. Sujets professionnellement exposés

Le BPA total a été détecté dans la majorité des échantillons d'urine (80,72 %). Pour rappel, la LOD était de 0,03 µg/L.

La moyenne des concentrations urinaires de BPA était de **3,24 ± 4,66 µg/L** (ND - **21,35 µg/L**). Rapportée à la créatinine, la moyenne de BPA total était de **3,70 ± 6,44 µg/g** (ND - **49,65 µg/g**). La médiane était de **0,84 µg/L** (**0,67 µg/g**).

Ce taux est inférieur aux taux rapportés dans les études similaires, menées à travers le monde, dans l'industrie plastique. (Tableau 45).

Tableau 45 : Niveaux d'exposition professionnelle au BPA. Études de la littérature

Références	Pays	Population	Moyenne urinaire BPA total	Médiane	Technique
Hanaoka <i>et al.</i> , 2002 [288]	Japon	42 travailleurs (BADGE)	-	3,22 µg/g créat.	LC-ECD
He <i>et al.</i> , 2009 [304]	Chine	167 travailleurs	4,6 µg/g créat. en début de poste et 5,4 µg/g en fin de poste	-	LC-fluorescence
Li <i>et al.</i> , 2010 [269]	Chine	- 427 travailleurs hommes - Industrie du plastique	-	53,7 µg/g	LC-fluorescence
Wang <i>et al.</i> , 2012 [282]	Chine	- 28 travailleurs hommes - Usine résine époxy	55,73 µg/L (31,96 µg/g créat.)	48,06 µg/L	LC-MS/MS
Maduka <i>et al.</i> , 2014 [281]	Nigéria	-108 travailleurs (80 hommes et 28 femmes) - Industrie du plastique	44,88 µg/L	-	ELISA
Liu <i>et al.</i> , 2015 [284]	Chine	- 592 travailleurs hommes - Industrie de résine époxy	-	11,1 µg/g	LC-fluorescence
Kouidhi <i>et al.</i> , 2017 [305]	Malaisie	- 70 travailleurs - Industrie du plastique (15 mois à 15 ans d'expérience)	-	3,88 µg/L	GC-MS
Notre étude 2020	Algérie	-170 travailleurs hommes - Industrie du plastique	3,24 µg/L (3,70 µg/g créat.)	0,84 µg/L (0,67 µg/g créat.)	GC-MS

Les résultats rendus, dans ces études peuvent être très différents. Cela peut être expliqué, principalement, par le niveau d'exposition. En Chine, grand producteur de BPA, on a rapporté, dans une usine de résine époxy, des concentrations de BPA, dans des échantillons de poussières, bien plus élevées que celles rapportées par d'autres études : 40 à 110 mg/m³ [306].

En plus du régime alimentaire, les travailleurs, dans leurs industries, sont, également, exposés, au BPA, par inhalation et par contact cutané. Dans notre étude, 67 % des travailleurs ont déclaré ne pas manger, pendant les heures de travail et plus de 90 % ont déclaré bénéficier d'une protection collective ; ce qui pourrait réduire leur exposition.

Le moment de prélèvement est, également, à relier aux taux urinaires de BPA. Le moment de prélèvement diffère d'une étude à l'autre. La concentration urinaire du BPA atteint un pic, six (6) heures, après exposition ; elle diminue, ensuite, rapidement, avec une demi-vie de cinq (5) heures [98]. Il en résulte que les taux mesurés, suite à une exposition récente, ne reflètent pas, forcément, ceux présents dans l'organisme.

Certains de nos échantillons ont été prélevés, en début de semaine (23,53 % des échantillons) et en début de poste (32,94 % des échantillons). Les périodes libres, à savoir le week-end et la nuit, représenteraient des moments d'élimination du BPA, accumulé durant la semaine de travail ; ce qui pourrait expliquer, en partie, les taux, relativement, bas de notre étude.

Il faut noter que d'autres conditions peuvent expliquer les différences observées dans les résultats de BPA, d'une étude à l'autre ; comme la taille de la population étudiée ou les différentes approches méthodologiques de mesure du BPA (ELISA ; LC à détecteur de fluorescence...) [269,284].

L'ELISA n'est pas aussi spécifique que les méthodes de spectrométrie de masse ; Il est possible, alors, que des substances, autres que le BPA et ses conjugués (y compris des analogues), puissent être détectés [281].

Dans notre échantillonnage, nous retrouvons une **corrélation significative, positive**, entre les taux de BPA total et les taux de BPA ajustés à la créatinine, les taux de BPA libre, les taux de BPA libre ajustés à la créatinine, à p <0,01.

Il est à noter que le dosage du BPA urinaire total est le meilleur indicateur pour la surveillance biologique des travailleurs exposés. Le dosage du bisphénol A libre et conjugué dans les urines, en fin de journée de travail, paraît être le paramètre à privilégier. Ce paramètre reflèterait l'exposition précédant le prélèvement. Il existe de grandes variabilités inter- et intra-individuelles des taux de bisphénol A urinaires ; c'est pourquoi le recueil des urines de 24 heures est préconisé par certains auteurs [98].

III.1.1.2. Sujets non exposés

Le BPA total a été détecté dans 68,75% des échantillons d'urine de la population témoin, moins que chez les sujets exposés ; la moyenne des concentrations urinaires de BPA était, également, plus basse : **1,00 ± 1,74 µg/L** (ND - **8,87 µg/L**). Rapportée à la créatinine, la

moyenne était de $1,47 \pm 3,69 \mu\text{g/g}$ (ND - $23,08 \mu\text{g/g}$). Le taux de BPA total urinaire présentait une médiane de $0,05 \mu\text{g/L}$.

Rappelons que dans la population générale, l'exposition se produit, principalement, par le biais de résidus contenus dans les aliments ou les boissons. D'autres voies, telles que l'inhalation et le contact cutané, pourraient, également, contribuer à l'exposition globale au BPA [174].

Ce taux est, globalement, comparable à ceux rapportés dans les études de bio-surveillance, chez la population générale, à travers le monde (**tableau 46**). Toutes ces données montrent que la population générale est réellement exposée au BPA ; il reste que les travailleurs de l'industrie du plastique sont exposés à un plus haut niveau.

Tableau 46 : Taux urinaires de BPA dans la population générale.

Références	Pays	Moyenne urinaire de BPA ($\mu\text{g/L}$)
Zhang et al., 2011 [307]	Japon	0,84
	Koweït	1,24
	Vietnam	1,42
	Corée du nord	0,20
Migeot et al., 2013 [308]	France	1,87
Li et al., 2013 [309]	Chine	3,00
Maduka et al., 2014 [281]	Nigéria	25,1
Xue et al., 2015 [310]	Inde*	5,08
Asimakopoulos et al., 2016 [234]	Arabie saoudite	4,92
Lehmler et al., 2018 [311]	USA	1,24
Youssef et al., 2018 [312]	Egypte*	0,79
Gounden et al. 2019 [313]	Afrique du Sud	0,95
Notre étude 2020	Algérie	1,00

* : Etude menée chez une population d'enfants.

III.1.2. Niveaux d'exposition aux analogues du BPA

Dans notre étude, le BPB n'a été détecté que dans trois échantillons, chez les travailleurs professionnellement exposés (pas de détection, chez le groupe témoin). A titre indicatif, la moyenne urinaire était de $2,73 \pm 3,82 \mu\text{g/L}$ (0,15 - 7,13 $\mu\text{g/L}$). La valeur médiane était de 0,92 $\mu\text{g/L}$.

Le taux mesuré de BPB est proche de celui de 2,69 $\mu\text{g/L}$, retrouvé par González *et al.* (2019), qui ont dosé le BPB, chez des travailleurs employés dans une industrie d'incinération de déchets. Notons que les autres analogues n'ont pas été détectés [314].

La législation de l'industrie algérienne du plastique ne répond pas aux recommandations internationales de remplacement du BPA par des analogues, il est, donc, intéressant de noter qu'aucune trace d'autres analogues n'a été détectée dans notre échantillonnage.

Au vu de ces résultats, on pourrait croire que l'Algérie est à l'abri des effets des analogues du BPA ; il manque, cependant, des études pouvant conforter cette supposition. Le développement économique et l'ouverture des marchés mondiaux n'épargneront pas l'Algérie quant à ces expositions, ce qui devrait inciter à initier le maximum d'études sur cette problématique.

Au niveau mondial, Le bisphénol F et le bisphénol S sont en train de remplacer le BPA dans la fabrication de produits contenant des polycarbonates et des résines époxy [311]. Il est, donc, nécessaire d'évaluer les niveaux d'exposition humaine à ces substituts, en vue d'en évaluer les risques pour la santé humaine.

Les analogues du BPA sont présents dans un large éventail de produits alimentaires, en provenance des États-Unis [315]. L'exposition aux analogues se produit via l'alimentation, l'ingestion de poussière domestique ainsi que la manipulation du papier thermique pour reçus, ce qui inscrirait ces produits sur la liste des toxiques d'exposition professionnelle [316].

L'étude de Lehmler *et al.* a analysé les niveaux urinaires de bisphénols, chez les 1808 adultes et les 868 enfants, participant au programme NHANES (2013-2014). Elle s'est intéressée aux facteurs démographiques, au style de vie, associés aux niveaux urinaires du BPA, du BPS et du BPF. Ces derniers ont été détectés, respectivement, dans 95,7; 89,4 et 66,5 % des échantillons d'urine.

Les niveaux de BPA, chez l'adulte américain, étaient plus élevés (1,24 $\mu\text{g/L}$) que ceux du BPF et du BPS (respectivement, 0,35 et 0,37 $\mu\text{g/L}$). Chez les enfants, les niveaux de BPA étaient, également, plus élevés (1,25 $\mu\text{g/L}$) que ceux du BPF et du BPS (0,32 et 0,29 $\mu\text{g/L}$). [311].

Au cours de ces dernières années, l'on s'est interrogé au sujet de l'impact de l'exposition aux analogues du BPA, sur la santé reproductive, notamment, en ce qui concerne le BPS, le BPF et le BPAF.

L'exposition au **BPS** se produit, fréquemment, par ingestion, inhalation et par voie cutanée. Dans une étude, menée aux États-Unis et dans sept pays asiatiques, on a pu détecter le BPS

dans 81 % des échantillons d'urine humaine ; sa concentration moyenne (0,654 µg/L) était comparable à celle du BPA [317].

Ni le métabolisme, ni le devenir biologique du BPS n'a, entièrement, été examiné [318].

Le BPF est, également, suspecté ; cependant, les données sur l'exposition et la reproduction, chez les animaux de laboratoire, sont limitées. Deux études, menées sur des rats Wistar femelles, ont suggéré que l'exposition au BPF, à des doses supérieures à 100 µg/kg, auraient un impact sur le poids de l'utérus [319,320].

Selon les résultats d'études, *in vitro*, l'effet du BPF, sur la stéroïdogénèse, est équivalent à celui du BPA. Le BPF aurait un impact sur la sécrétion de la testostérone et l'expression des gènes stéroïdiens (Cyp51 et 5αRed1), à une dose de 0,5 µg, dans les cellules de Leydig [321].

Le BPAF est, tout aussi, suspecté. Il a été détecté dans des échantillons d'urine, à des concentrations allant de la limite de détection analytique jusqu'à 3,93 µg/L, en Chine et en Arabie saoudite [234,322]. Le BPAF présenterait une capacité de liaison œstrogénique, supérieure à celle du BPA. De plus, le BPAF peut présenter une affinité préférentielle (trois fois plus forte) pour ER β, par rapport à ER α [318].

Feng *et al.* ont signalé que l'exposition au BPAF, chez les rats mâles adultes, entraînait une diminution du taux sérique de testostérone et de sa biosynthèse, une augmentation de l'hormone LH et une stimulation des taux de FSH [323].

Les rapports scientifiques américains insistent sur le fait que les bisphénols sont omniprésents parmi les polluants environnementaux ; l'exposition croissante à ces bisphénols, constitue, donc, une source de préoccupation pour la santé humaine [311]. Il est important de noter que les associations entre les facteurs démographiques, le style de vie et les niveaux urinaires de bisphénols, relevés dans toutes ces études, sont complexes à analyser, du fait de l'omniprésence et la concomitance des effets de ces molécules.

III.1.3. Données de l'exposition professionnelle

III.1.3.1. Poste de travail

Chez les sujets exposés, les taux urinaires de BPA étaient associés au poste de travail. Il existe une différence, à la limite de la significative ($p = 0,08$) entre la moyenne de BPA total, chez les sujets, fortement, exposés ($3,84 \pm 4,88$ µg/L) et celle des sujets, faiblement, exposés ($2,61 \pm 4,36$ µg/L). La différence est significative pour la médiane des deux groupes ($1,91$ Vs $0,05$ µg/L, $p = 0,023$). Rappelons que les sujets, fortement, exposés occupent les postes de mélange, de moulage et de façonnage ($N = 81$) et les sujets, à priori, faiblement, exposés occupent les postes de nettoyage, d'emballage, de sécurité et d'administration ($N = 85$). L'exposition au BPA est, réellement, plus perceptible chez les sujets qui travaillent, directement au contact du BPA.

Il est à noter, que les taux les plus élevés de BPA sont retrouvés chez les travailleurs occupant les postes de moulage (moyenne de $5,64$ µg/L et médiane de $4,36$ µg/L) et de façonnage (moyenne de $3,66$ µg/L et médiane de $0,91$ µg/L).

Les travailleurs postés au nettoyage et à l'emballage présentent des moyennes, respectivement, de 3,00 et 2,79 µg/L ; cependant, leurs médianes, respectives, de 0,05 et 0,12 µg/L, indiquent que ces groupes ne sont pas, globalement, exposés. La hausse des moyennes revient à quelques valeurs individuelles élevées.

Le tableau 47 rapporte quelques résultats de mesure de BPA associée au poste de travail. Nos valeurs restent bien inférieures aux données des enquêtes chinoises.

Tableau 47 : Exposition professionnelle au BPA, en relation avec le poste de travail. Industrie du plastique

Référence	Pays	Forte exposition		Faible exposition		Significativité statistique (p value)
		Poste	Taux urinaire BPA	Poste	Taux urinaire BPA	
Li et al., 2010 [269]	Chine	Mélange et moulage	53,7 µg/g Créat.	Administration	1,2 µg/g	<u>0,001*</u>
Wang et al., 2012 [282]	Chine	Moulage	398,86 µg/L	Administration	19,57 µg/L	<u>0,01*</u>
				Emballage	25,66 µg/L	
Liu et al., 2015 [284]	Chine	Mélange et moulage	68,5 µg/g	Emballage	4,2 µg/g	<u>0,001*</u>
Khoudhi et al. 2017 [305]	Malaisie	Moulage	3,81 µg/L (médiane)	Unité de recherche	0,73 µg/L (médiane)	<u>0,001*</u>
Notre étude 2020	Algérie	Mélange	3,26 µg/L	Nettoyage	3,00 µg/L	<u>0,023 *</u> (médiane)
		Moulage	5,64 µg/L	Emballage	2,79 µg/L	
		Façonnage	3,66 µg/L	Administration	0,58 µg/L	

*La différence est significative entre le groupe, fortement, exposés et le groupe, faiblement, exposés.

Kouidhi *et al.* ont rapporté une exposition atmosphérique au BPA plus élevée, dans l'unité de moulage (médiane de 12,5 ng/m³), comparée à l'unité de recherche (médiane de 3,5 ng/m³). Les travailleurs de cette unité présentaient des taux urinaires de BPA plus élevés que ceux de sujets non exposés (médiane de 3,81 µg/L Vs 0,73 µg/L) [305].

Dans des ateliers de résines époxy, il a été relevé, sur le temps moyen pondéré de 8 h (TWA₈), jusqu'à 0,24 mg/m³ de BPA, dans l'air. La concentration atmosphérique, dans les usines de production de BPA, peut-être, encore, plus élevée, atteignant 7,9 mg/m³ [305].

En dépit du fait que les étapes de mélange et moulage de la résine soient, généralement, semi-automatiques, il reste que l'exposition à des taux élevés de BPA demeure et, essentiellement, par voie cutanée et respiratoire.

III.1.3.2. Ancienneté au travail

Dans notre étude, l'ancienneté au travail variait de 03 mois à 23 années, chez les travailleurs exposés. La moyenne étant de 6,77 ± 6,66 années.

Les sujets employés depuis plus de cinq ans, présentaient, en moyenne, des taux urinaires de BPA (3,77 µg/L ; N = 73) supérieurs à ceux des travailleurs employés depuis, moins de cinq ans (2,82 µg/L ; N = 93). La différence était, fortement, significative pour les médianes de BPA total (2,58 µg/L Vs. 0,05 µg/L ; p= 0,001).

Nos résultats concordent avec ceux de Maduka *et al.* [281] et de Li *et al.*; ces derniers ont montré que les taux urinaires de BPA (427 travailleurs) corrélaient, positivement, l'ancienneté au travail, répartie en trois catégories (moins d'un an, entre un an et cinq ans et plus de cinq ans) [269] .

La durée d'exposition est, ainsi, responsable de l'accumulation du BPA, chez les travailleurs de l'industrie plastique. Bien que le BPA puisse être excrété dans l'urine et les fèces, la bioaccumulation, dépendante de l'exposition, est, toujours, possible [324] ; connu pour ses effets toxiques, la longue exposition au BPA, à des niveaux élevés, peut aggraver le risque [281].

Estimation du nombre d'années de travail correspondant à un risque élevé

Nous avons tenté de déterminer un seuil correspondant au nombre d'années de travail, au-delà duquel, un taux urinaire de BPA élevé, serait associé à un risque potentiel. Les variables à considérer sont, donc, le nombre d'années de travail et le taux de BPA.

Etant donné qu'en Algérie, nous ne disposons d'aucune donnée relative à l'exposition moyenne au BPA, au sein de la population générale ou professionnelle, un taux de BPA urinaire supérieur à 1,20 µg/L est choisi comme seuil. Il s'agit d'un taux « minimal », considéré, dans la littérature, comme pouvant être à l'origine d'effets néfastes sur le système endocrinien. Il existe, toutefois, une variation de ce taux, allant de 1,9 - 4,2 µg /L [281,325].

A chaque niveau d'années d'expérience, nous avons relevé la proportion de sujets présentant une concentration urinaire de BPA supérieure à 1,20 µg/L (vrais positifs = VP) ainsi que celle des sujets affichant une concentration de BPA inférieure à 1,20 µg/L (vrais négatifs = VN). Nous avons, ensuite, calculé la sensibilité (VP / total des vrais positifs) et la spécificité (VN / total des vrais négatifs). Le taux des faux positifs correspond à (1 – spécificité). La courbe **Receiver Operating Characteristic (ROC)** est la représentation graphique de la relation existant entre la sensibilité Se (ordonnée) et la spécificité Sp (abscisse : 1 - Sp).

Le tracé se présente en marches d'escalier, reliant le coin inférieur gauche du graphique (Se = 0 et Sp = 1) au coin supérieur droit (Se = 1 et Sp = 0). Compte tenu du seuil de 1,20 µg/L de BPA, la surface sous la courbe (ROC) est, relativement, élevée (0,676) et significative (p = 0,001), avec un point de césure estimé à **3,5 années** d'expérience (Figure 79).

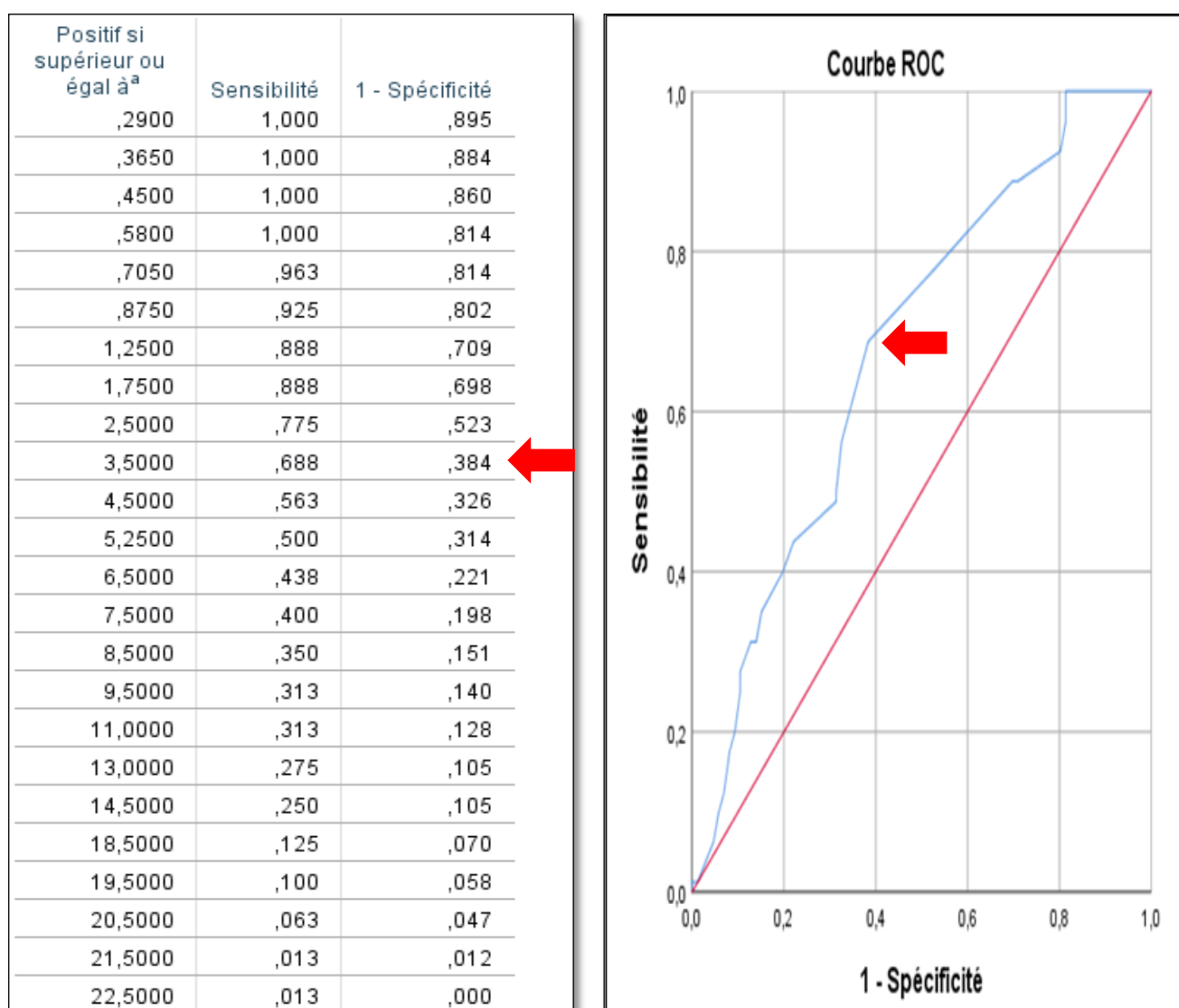


Figure 79 : Courbe ROC. Détermination du seuil d'années de travail correspondant aux taux de BPA élevés. Travaillleurs exposés.

Les sujets, présentant une ancienneté au travail, égale ou supérieure à 3,5 ans, sont au nombre de 92 (54,11 %). Ces sujets à risque, affichent une moyenne de BPA de $3,77 \pm 4,16 \mu\text{g/L}$ et une médiane de $2,59 \mu\text{g/L}$, contre une moyenne de $2,65 \pm 5,14 \mu\text{g/L}$ et une médiane de $0,05 \mu\text{g/L}$ ($N=78$), chez les travailleurs de moindre expérience.

III.1.3.3. Moment du prélèvement urinaire

Les taux moyens de BPA étaient plus élevés dans les échantillons d'urine prélevés, en milieu et en fin de semaine de travail ($3,56 \pm$ et $3,63 \mu\text{g/L}$, respectivement), par rapport à ceux, relevés en début de semaine ($1,97 \mu\text{g/L}$). Toutefois cette différence n'est pas significative ($p=0,172$).

Ces données rejoignent celles, observées pour l'ancienneté au travail, supposant que la bioaccumulation du BPA est dépendante de l'exposition, toujours, possible en dépit de l'excrétion de ce dernier.

Par contre, les taux urinaires moyens étaient plus élevés, chez les sujets prélevés, en début de journée ; (premières urines du matin : $3,80 \mu\text{g/L}$; $N=55$), que chez ceux, prélevés, en fin de journée ($2,96 \mu\text{g/L}$; $N=111$). La différence n'est pas significative ($p=0,276$). Les médianes montrent une différence, à la limite de la significativité ($2,43 \mu\text{g/L}$ Vs $0,61 \mu\text{g/L}$; $p=0,066$).

Signalons que 67% des sujets, fortement exposés, avaient fourni des urines en fin de journée et 45%, en milieu de semaine. Les sujets, faiblement exposés, avaient fourni des urines, à raison de 66%, en fin de journée et à 42%, en fin de semaine. Ces proportions sont, tout à fait, comparables ; il en résulte que le niveau d'exposition est lié au poste de travail et que le moment du prélèvement urinaire, ne présente pas d'incidence.

III.1.3.4. Type de protection

Paradoxalement, les taux moyens de BPA étaient, plus élevés, chez les sujets, déclarant bénéficier de protection collective ($3,34 \mu\text{g/L}$; $N=155$ Vs $1,86 \mu\text{g/L}$; $N=11$) ; la différence, n'étant pas significative ($p=0,31$). Le constat est le même pour les médianes de BPA ($1,21 \mu\text{g/L}$ Vs $0,05 \mu\text{g/L}$; $p=0,32$). Ceci pourrait être expliqué, en partie, par l'effectif réduit du groupe « non protégé ».

Les observations sont comparables, s'agissant de la protection individuelle. Moyenne : $3,69 \mu\text{g/L}$; $N=45$ Vs $3,07 \mu\text{g/L}$; $N=121$; $p=0,44$. Médiane : $2,38 \mu\text{g/L}$ Vs $0,48 \mu\text{g/L}$; $p=0,21$.

Il faut, toutefois, rappeler que les réponses des travailleurs, aux questions relatives aux moyens de protection, étaient données en présence du médecin du travail ; ce qui pourrait constituer un élément d'interférence préjudiciable à la fiabilité des réponses et expliquer ce constat paradoxal.

III.1.3.5. Problématique de la co-exposition aux toxiques en milieu professionnel [327]

En milieu professionnel, les agents susceptibles d'induire des risques sanitaires sont, souvent, abordés, séparément, et non en terme dynamique de poly-exposition.

Le travailleur peut être exposé, simultanément, à de multiples agents chimiques, physiques et/ou biologiques ; il peut, en outre, être confronté à des contraintes organisationnelles et psychosociales. La multiplicité et la concomitance des expositions peuvent favoriser la survenue de pathologies et, en l'occurrence, celle qui touche à la reproduction.

Le tableau 48 rapporte les principaux agents chimiques associés à une poly-exposition, en milieu professionnel.

Tableau 48 : Principaux agents chimiques associés à la co-exposition, en milieu professionnel [328]

Agents chimiques		Altération biologique	Particularités
Métaux	Cuivre	Motilité du sperme humain (in <i>vitro</i>).	Pigments pour coloration. Peuvent être à l'origine de contamination
	Plomb	Fertilité de l'homme ou de la femme	A l'origine d'avortements spontanés, malformations
	Mercure	Puissant neurotoxique et reprotoxique	Risque particulier chez la femme enceinte
	Nickel et Béryllium	Effets cutanés allergiques, irritations du nez, de la gorge pouvant aboutir à une bronchite chronique ou de l'asthme	Cancers (sinus, bronches) pouvant être causés par le dioxyde et le sulfate de nickel.
Solvants	Utilisés comme dégraissants ; rentrent dans la composition de peintures, vernis, laques, encres, aérosols, teintures, adhésifs, carburants ; intermédiaires dans les synthèses chimiques.		
	Benzène	cancérogène connu (leucémie) chez l'Homme	
	Éthers de glycols	Reprotoxiques	
	Éthers diphényliques polybromés (PBDE)	Altération de la reproduction masculine	
Nano particules	Nanoparticules d'argent (AgNPs) et de titane (TiNPs)	L'argent est accumulé dans les testicules de souris dont la mère a été exposée, durant la gestation, à AgNPs.	Risque tératogène : malformations du tube neural de la progéniture

III.1.4. Facteurs d'influence

III.1.4.1. Facteurs sociodémographiques

A/ Age

Le groupe des sujets exposés, âgés de plus de 50 ans, présentent les valeurs les plus élevées de BPA total (moyenne = 5,53 µg/L, médiane = 4,31 µg/L). Les autres tranches d'âge affichent des moyennes de 2,43 à 4,13 µg/L et des médianes de 0,05 à 2,22 µg/L. La différence **est fortement significative** ($p = 0,007$ pour la moyenne et $p = 0,01$ pour la médiane).

Les sujets **de plus de 50 ans** présentent des taux de BPA total, significativement, plus élevés que ceux de chacun des groupes de sujets âgés de 30-39 ans (2,53 µg/L) et de 40-49 ans (2,43 µg/L).

Ces résultats sont comparables à ceux de l'étude de Liu *et al.* qui rapportent un taux de BPA supérieur, chez les travailleurs âgés de plus de 40 ans ($p = 0,001$) [284].

Nous retrouvons, aussi, une **corrélation positive, significative** ($p = 0,02$), entre l'âge et les niveaux urinaires de BPA libre, ainsi qu'entre l'âge et le taux de BPA libre ajusté à la créatinine ($p = 0,01$).

Cependant, les études de Maduka *et al.*, de Li *et al.* comme celle de He *et al.* ne rapportent pas de différence significative (à la limite de la significativité) et ce, malgré une différence notable des taux de BPA urinaire entre les travailleurs de moins de 40 ans et ceux de plus de 50 ans [281, 269,304].

Ce déficit de significativité, dans ces deux dernières études, pourrait être lié, en partie, à l'hétérogénéité de l'échantillon qui englobe, à la fois, des sujets masculins et féminins.

Chez nos sujets, non exposés, le taux moyen de BPA total, du groupe de plus de 40 ans, est supérieur à celui des autres tranches d'âge (1,49 µg/L Vs 0,63 et 0,61 µg/L ; $p = 0,23$). Il en est de même du taux percentile 75 (2,56 Vs 1,57 et 0,67 µg/L ; $p = 0,48$).

L'ensemble de ces résultats donnent, fortement, à penser que le BPA est bioaccumulable dans l'organisme, au fil des années, et ce, du fait de l'exposition quotidienne.

B/ Situation familiale

Chez le groupe témoin, tout comme chez le groupe exposé, il n'existe pas d'association significative entre les moyennes et médianes de BPA total et la situation familiale : marié ou célibataire. (p allant de 0,5 à 0,79).

Li *et al.*, Liu *et al.* rapportent des résultats analogues. Il convient de noter que les travailleurs mariés représentaient la majorité des deux échantillonnages, tout comme dans notre étude [269,284].

C/ Autres facteurs sociodémographiques

D'autres paramètres sociodémographiques ont été rapportés dans la littérature.

- Dans la population NHANES, les individus de couleur présentaient une exposition au BPA plus élevée que les autres habitants ; les américains d'origine mexicaine semblaient être, plus faiblement, exposés [174]. Cependant, les femmes américano-mexicaines, ayant passé leur vie, aux États-Unis étaient plus exposées que les récentes immigrantes [329].

Certaines populations peuvent être plus sensibles aux effets néfastes du BPA. Les femmes asiatiques américaines, qui subissent des traitements de fertilité spécifiques, se sont révélées plus sensibles au BPA, en termes de maturation des ovocytes. De même que l'on a relevé, chez les hommes américains, d'origine asiatique, une réduction dans la capacité de fécondation, en relation avec une exposition élevée au BPA [330].

- Les personnes ayant un revenu ou un niveau de scolarité inférieur, avaient tendance à présenter des expositions au BPA plus élevées. Ces caractéristiques étaient cohérentes tant chez les enfants que chez les adultes. [174].

- Concernant le sexe, les résultats des enquêtes divergent. Certaines études ont rapporté une exposition plus élevée, chez les hommes que chez les femmes, avec une corrélation BPA / testostéronémie, plus élevée [331,332]. A l'inverse, dans d'autres études, il n'a pas été mis en évidence de différence entre hommes et femmes [203,333].

Ces différences démographiques représentent un axe important de recherche, afin de mieux approcher les sources d'exposition et mieux comprendre les risques sanitaires du BPA.

III.1.4.2. Facteurs de risque

A/ IMC

Dans notre étude, **aucune association significative**, entre l'IMC et les taux de BPA total, n'a été notée, tant pour le groupe exposé que pour le groupe témoin. Cependant, dans le groupe exposé, les taux les plus élevés de BPA sont retrouvés chez les sujets obèses (IMC >30 : 4,03 µg/L) Vs (IMC de 16 à 18 : 3,81 µg/L et IMC de 18 à 24 : 2,94 µg/L).

Cette absence d'association est relevée dans plusieurs études bien que certaines aient trouvé des effets néfastes sur la santé [174].

Ces résultats divergent avec ceux de deux études, réalisées aux USA et qui ont révélé une association significative entre les taux de BPA urinaire et l'obésité (IMC > 30), chez la population générale adulte [203] ainsi que chez les adolescents [334].

Les associations positives entre l'exposition au BPA et l'IMC/obésité sont difficiles à interpréter et la nature transversale des études ne permet pas d'établir de lien de causalité. Il est possible que l'augmentation des taux de BPA, soit due à un effet cumulatif lié à une augmentation de la masse grasse corporelle et du tour de taille.

Cependant, une étude, dosant le BPA dans le tissu adipeux humain, indique qu'une augmentation du BPA urinaire ou sérique n'est pas due à une augmentation des réserves adipeuses de BPA [335]. Il est, également, possible que des individus, ayant un IMC accru, aient un apport calorique plus élevé et soient exposés à des concentrations plus élevées de BPA, par le biais d'emballages alimentaires ou d'autres facteurs liés au mode de vie [203].

Il a été suggéré que le BPA peut conduire à l'augmentation de l'IMC, en provoquant une insulino-résistance due à une perturbation au niveau de la libération d'adiponectine, à partir des tissus adipeux et en augmentant les cytokines inflammatoires [336].

Bien que ces études soient recevables en termes de méthodologie et d'analyse, elles restent limitées, en raison de leur nature transversale et nécessitent des recherches animales et humaines supplémentaires, en particulier, des études longitudinales, afin d'élucider le lien entre l'exposition (prénatale et postnatale) au BPA et l'obésité.

De même qu'il convient de rappeler que l'obésité est multifactorielle, influencée par une interaction complexe entre des facteurs génétiques, comportementaux et environnementaux.

B/ Tabagisme et consommation d'alcool

Aucune différence significative, impliquant ces facteurs et les taux de BPA, n'a été notée dans nos deux groupes de sujets, exposés et non exposés.

Cependant, chez les sujets fumeurs du groupe exposé, le taux moyen de BPA est supérieur à celui des sujets non-fumeurs ; la différence est **à la limite de la significativité** (4,01 $\mu\text{g/L}$ Vs 2,65 $\mu\text{g/L}$; $p = 0,063$).

Dans le groupe témoin, les moyenne et médiane de BPA sont plus élevées chez les non consommateurs de tabac et d'alcool ; la différence n'étant pas significative. Cette observation peut être expliquée par un effectif plus élevé chez les non consommateurs.

En somme, le tabac et l'alcool ne semblent pas être un facteur de risque avéré. Nos résultats concordent avec ceux de la littérature. Les fumeurs présentent, généralement, des taux de BPA urinaire plus élevés, la différence, demeurant non significative [284,288].

III.1.4.3. Facteurs d'exposition générale

A/ Lieu d'habitation

Chez les sujets, professionnellement exposés, vivant en zone urbaine, la moyenne de BPA est très proche de celle des sujets vivant en zone rurale (3,46 Vs 3,23 $\mu\text{g/L}$; $p = 0,825$), cependant, la médiane est, légèrement, supérieure, chez les sujets vivant en milieu urbain, **sans significativité statistique** (1,91 Vs 0,75 $\mu\text{g/L}$; $p = 0,31$). Dans cette approche, Il faut noter le nombre réduit (23) de travailleurs, vivant en zone rurale.

Chez les sujets, non exposés, il n'y a **pas de différence significative** entre les moyennes et les médianes de BPA total, selon la zone d'habitation ($p = 0,81$ et $p = 0,88$).

La littérature rapporte chez des filles égyptiennes, habitant en zone urbaine et rurale des concentrations similaires de BPA urinaire total : médianes respectives de 1,00 et 0,60 µg/L [337].

Il est fort probable, qu'en zone rurale, les habitants soient moins exposés au BPA. Les facteurs d'exposition au BPA, telle que l'alimentation moderne emballée dans des boîtes de conserve et des canettes de sodas, la pollution environnementale témoignent d'une source sûre de contamination [338].

Dans notre étude, lors de l'interrogatoire des travailleurs, il n'a pas été possible d'obtenir des informations claires quant au type de conditionnement des aliments et boissons contenant du BPA, consommés par ces derniers.

B/ Pose récente d'amalgame dentaire

Chez nos sujets exposés, il **n'existe pas d'association significative** entre la pose d'amalgame dentaire et les taux de BPA ($p = 0,87$ pour la moyenne et $p = 0,57$ pour la médiane). Toutefois, il est impératif de noter que plus de 90 % des sujets n'ont pas reçu de soins dentaires, au cours de l'année précédant le prélèvement urinaire.

Chez les sujets, non exposés, il peut apparaître **une différence significative** entre porteurs d'amalgame dentaire (0,03 µg/L, limite de détection analytique du BPA) et non porteurs (1,07 µg/L). Cette différence ne peut être considérée, compte tenu du faible effectif du premier groupe (3 porteurs Vs 45 non porteurs).

La pose récente d'amalgame dentaire est à prendre en compte en tant que source d'exposition au BPA. En effet, le diméthacrylate de glycidyle bisphénol A monomère (Bis-GMA) est le dérivé de BPA le plus couramment utilisé dans les composites dentaires à base de résine époxy [339]. Un autre dérivé du BPA peut être utilisé : le diméthacrylate de bisphénol A (Bis-DMA). Le BPA lui-même n'a pas de rôle fonctionnel dans le domaine de composites dentaires ; il existe comme une impureté dans le procédé de fabrication ou comme produit de dégradation [338].

Le règlement du Parlement Européen stipule que les producteurs de matériaux dentaires ne sont tenus de déclarer les composants toxiques de ces matériaux, que lorsqu'ils atteignent des taux de 0,1 % à 1 % [338].

De nombreuses études se sont intéressées aux niveaux de BPA pouvant être libéré par ces matériaux. Chung *et al.* ont mesuré les concentrations urinaires de BPA, chez 496 enfants sud-coréens porteurs de composite de restauration dentaire. Ils ont montré que la présence de nombreuses surfaces de remplissage dentaire, peut augmenter la concentration urinaire de BPA [340].

Sasaki *et al.* ont mesuré, chez 21 sujets, les concentrations de BPA salivaires, en relation avec la pose d'un composite dentaire. Ils ont pu observer une élévation des concentrations salivaires de BPA, immédiatement après la pose du composite. Cependant, après un gargarisme à l'eau tiède, les taux salivaires de BPA avaient diminué, de manière significative. [341].

Il reste que très peu d'études portent sur l'effet du BPA, libéré de ces composites dentaires, sur la santé humaine [338].

Maserejian *et al.* ont étudié, sur 5 ans, le développement physique d'enfants porteurs d'amalgame ou de composite dentaire. Les auteurs ont mesuré les changements dans l'indice de masse corporelle (IMC), la graisse corporelle, le taux de croissance. Ils ont conclu qu'il n'y avait pas de corrélation significative entre les obturations par composite ou par amalgame et le développement physique [342].

Maserejian *et al.* ont, également, conclu, lors d'une seconde étude portant sur 534 enfants, que les sujets, les plus exposés aux composites à base de bis-GMA, présentaient une altération des fonctions psychosociales (anxiété et dépression) [343].

III.2. Impact de l'exposition au BPA

III.2.1. Bilan biologique

III.2.1.1. Enzymes hépatiques

Sujets exposés : il **n'existe pas de différence significative** entre les moyennes et médiane de BPA ($p = 0,17$ et $0,82$ pour les moyennes d'ASAT et d'ALAT / $p = 0,63$ et $0,34$ pour leur médianes).

Groupe témoin : les activités enzymatiques se situent dans les normes. Aucune corrélation significative entre les taux de BPA et les activités enzymatiques, n'est à noter.

Il convient de rappeler que le mécanisme d'altération de la fonction hépatique, est bien plus complexe et d'autres facteurs biologiques, environnementaux et médicaux, peuvent intervenir.

Il n'a pas été, non plus, mis en évidence d'association significative entre le taux de BPA urinaire total (aussi faible que le nôtre) et l'activité des enzymes hépatiques, lors de l'étude NHANES. Cependant, il existait une association positive entre les activités de la phosphatase alcaline, de la lactate déshydrogénase et l'élévation du BPA urinaire [195].

D'autres études retrouvent des associations significatives comme celle de Lang *et al.* qui ont relevé une corrélation significative entre les plus élevés des taux urinaires de BPA total et l'élévation de l'activité des enzymes hépatiques [190].

III.2.1.2. Triglycérides et cholestérol (risque cardiovasculaire)

A-Taux de cholestérol

Que ce soit chez les travailleurs exposés ou non exposés, on ne **retrouve pas de corrélation** entre les taux de BPA et les taux de cholestérol. Cependant, chez les sujets exposés, le taux moyen de BPA est, **significativement, supérieur**, chez les sujets présentant une cholestérolémie normale ($3,52 \mu\text{g/L}$; $N = 147$ Vs $1,10 \mu\text{g/L}$; $N = 19$; $p = 0,03$). Il en est de même des médianes ($1,06 \mu\text{g/L}$ Vs $0,05 \mu\text{g/L}$; $p = 0,029$).

Il convient de noter la grande différence entre les effectifs : 150 cholestérolémies normales et 20 hypercholestérolémies.

A l'encontre, les sujets non exposés, présentant une hypercholestérolémie, affichent une moyenne de BPA plus élevée par rapport aux sujets dont la cholestérolémie est normale (2,31 $\mu\text{g/L}$, N= 6 Vs 0,6 $\mu\text{g/L}$, N= 38 ; p = 0,28). Là, également, l'attention doit être portée sur le faible effectif du premier groupe.

B-Taux de triglycérides

Sujets exposés : il **n'existe pas de différence significative** entre les moyenne et médiane de BPA des deux groupes de sujets (TG normaux < 1,5 g/L et TG supérieurs à la norme : p =0,76 pour la moyenne et p= 0,14 pour la médiane). Cependant, les médianes de BPA sont plus élevés chez les sujets présentant un taux de TG supérieur à la norme (1,32 $\mu\text{g/L}$, N= 118 Vs 0,27 $\mu\text{g/L}$, N= 44).

Sujets non exposés : on relève la même tendance. Moyennes de BPA : 1,22 $\mu\text{g/L}$; N= 20 Vs 0,70 $\mu\text{g/L}$; N=28). - Médianes : identiques dans les deux groupes (0,05 $\mu\text{g/L}$). La différence **n'est pas significative** (p = 0,72 pour la moyenne et p = 0,5 pour la médiane).

Il faut rappeler que, dans notre étude, l'écrasante majorité des travailleurs exposés (88,83%) déclaraient ne pas avoir d'antécédent médical particulier : un travailleur présentait une cardiopathie et trois autres, de l'hypertension artérielle ; leur âge variait de 48 à 56 ans, ils présentaient un IMC >25 et occupaient les postes d'emballage ou administratifs. La moyenne de BPA, chez ces 4 patients, était, relativement, basse (1,55 $\mu\text{g/L}$).

Cependant ,la littérature indique, chez l'adulte, un possible lien entre les taux élevés de cholestérol et de TG dans l'apparition des troubles cardiovasculaires, dans un contexte d'exposition au BPA [208].

Lang *et al.*, ont constaté que l'augmentation du BPA urinaire était associée à un diagnostic, plus fréquent, des maladies cardiovasculaires (atteinte coronarienne et infarctus) [190]. Les données de l'étude NHANES ont rapporté le même constat, chez des sujets âgés de 18 à 74 ans [195].

Dans l'ensemble, on admet qu'il existe une association entre l'exposition des adultes au BPA et les troubles et les maladies cardiovasculaires. Cependant, le mécanisme d'action reste encore, soumis à l'expérimentation [174].

Il est indiqué, toutefois, que le BPA affecte l'angiogenèse en stimulant la production du facteur de croissance endothélial vasculaire, provoquant une néo-vascularisation incontrôlée et une augmentation de l'épaisseur septale interventriculaire.

L'exposition au BPA, à une concentration variable, de 1 à 25 $\mu\text{g/L}$, a conduit à une augmentation des niveaux de calcium dans les érythrocytes, avec, pour conséquence, l'accroissement de la translocation de la phosphatidyl sérine dans les globules rouges et, par suite, le développement d'arythmies [171].

III.2.1.3. Glycémie (risque diabétogène)

Sujets exposés : 116 sujets présentaient une glycémie normale contre 50 sujets avec une glycémie anormale. Le premier groupe affichait des moyennes et médiane (3,19 et 0,83 µg/L) inférieure à celles du second groupe (3,36 et 0,85 µg/L). La différence **n'est pas significative** ($p = 0,83$ pour la moyenne et $p = 0,26$ pour la médiane).

Sujets non exposés : tous les sujets présentaient une glycémie normale.

Nous n'avons relevé aucune corrélation se rapportant aux taux de BPA urinaire et à la glycémie, et ce, dans les deux groupes de sujets exposés ou non exposés.

Rappelons qu'en l'absence de données diagnostiques spécifiques, telles que l'hémoglobine glyquée (HbA1c) ou la glycémie post prandiale, nous ne pouvons imputer les hyperglycémies relevées chez nos sujets à un diabète de type 2. De même que le dosage de l'insuline aurait pu nous livrer quelques éléments d'information quant à l'insulino-résistance et son éventuel rapport avec les taux de BPA.

L'hyperglycémie et le diabète de type 2 ont été associés au BPA, dans de nombreuses études chez l'Homme [190-192,195,197]. Il faut, cependant, noter l'absence de corrélation BPA/diabète, dans une étude transversale coréenne [194].

Dans ce genre de pathologie, la co-exposition, à d'autres composés, doit être prise en compte. Hong *et al.* ont rapporté, chez des sujets adultes, une association significative entre l'accroissement de l'intinsulino-résistance et l'élévation du BPA total urinaire. Le même résultat a été obtenu, dans la même enquête, avec un composé phtalate (mono 2- éthylhexyl phtalate, MEHP), ce qui indique la possibilité, sinon, la probabilité d'un «effet cocktail» de ces perturbateurs endocriniens [344].

Des études animales ont été menées en vue d'élucider le mécanisme d'action du BPA : L'exposition à un niveau élevé de BPA (10 – 400 mg/kg) a provoqué, chez le rat, un stress oxydant et une perturbation de la fonction des cellules β pancréatiques, entraînant une perturbation de la régulation du glucose [345,346]. Le BPA a provoqué une différenciation des îlots et un retard dans la conversion des îlots immatures en îlots arrivés à maturité, entraînant, ainsi, une expression excessive du glucagon [345] et une altération des rapports des cellules β dans l'îlot [347].

De même que l'on a étudié, chez des souris, l'effet d'une exposition au BPA, sur la signalisation de l'insuline, dans le cerveau. Chez des souris fœtales (8 mois), la signalisation de l'insuline, y compris l'insuline phosphorylée, le signal extracellulaire phosphorylé, la protéine kinase régulée (p-ERK) et le transporteur de glucose (GLUT), ont été, significativement, diminués. De plus, une hyper-insulinémie, une intolérance au glucose et une insulino-résistance ont été signalées comme étant associées à des expositions au BPA [348].

Une confusion pourrait, éventuellement, affecter ces résultats ; c'est celle que des pathologies telles que l'obésité, le diabète de type 2 et les maladies cardiovasculaires pourraient être le produit de la consommation d'une plus grande quantité d'aliments emballés et d'un apport

calorique plus élevé. Les sujets, en question, pourraient, ainsi, être exposés à des teneurs plus élevées du BPA, par le biais d'emballages alimentaires ou d'autres facteurs liés au mode de vie.

La consommation d'une quantité plus élevée **d'aliments** en conserve peut-elle, à elle seule, contribuer à ces maladies ? La question n'est pas claire. En raison de l'omniprésence du BPA dans les **emballages** alimentaires, il serait, presque, impossible de mener une étude, à long terme, sur l'influence des seuls aliments en conserve sur la santé humaine.

III.2.1.4. Hormones

Le bilan hormonal, de l'étude, se limite au dosage de FSH, LH, testostérone ; pour des raisons techniques, nous n'avons pas pu compléter ce bilan (œstradiol, inhibine B ...).

A/ Sujets exposés :

- Une corrélation positive, **à la limite de la significativité**, entre les taux de BPA total et les taux de FSH ($r = 0,14$; $p = 0,066$).
- Une **absence** de corrélation entre les taux de BPA total et les taux de testostérone sanguine ($r = 0,106$; $p = 0,83$), de même que pour les taux de BPA total et les taux de LH sanguine ($r = -0,11$; $p = 0,15$).

L'étude des comparaisons entre les taux normaux et les taux anormaux a donné :

- Taux de FSH : une différence, **à la limite de la significativité pour la médiane** ($p = 0,074$)

Entre les moyennes de BPA : sujets présentant un taux de FSH normal / sujets présentant un taux inférieur à la norme ($3,06 \mu\text{g/L}$; $N = 111$ Vs $3,63 \mu\text{g/L}$; $N = 53$).
Entre les médianes ($0,58 \mu\text{g/L}$ Vs $2,19 \mu\text{g/L}$).

- Taux de LH et de testostérone (TST) : **pas de différence significative** ($p = 0,95$ et $0,65$ pour LH - $0,69$ et $0,52$ pour TST)

Entre les moyennes de BPA : sujets présentant un taux de LH ou TST normal / sujets présentant un taux inférieur à la norme ($3,27 \mu\text{g/L}$; $N = 152$ pour LH et $3,30 \mu\text{g/L}$; $N = 153$ pour TST) Vs ($3,19 \mu\text{g/L}$; $N = 11$ pour LH et $2,70 \mu\text{g/L}$; $N = 10$ pour TST).

B/ Sujets non exposés :

- Absence de corrélation entre les taux de BPA, d'une part, et les taux de FSH, de LH et testostérone, d'autre part ($p = 0,14$; $0,79$; $0,32$, respectivement).

L'étude des comparaisons entre les taux normaux et les taux anormaux a donné :

- Taux de LH : **une différence significative** ($p = 0,007$) entre le taux moyen de BPA, des sujets présentant un taux de LH normal ($1,11 \mu\text{g/L}$; $N = 37$) et celui des sujets au taux de LH inférieur à la norme ($0,16 \mu\text{g/L}$; $N = 8$). Cette nette différence pourrait être attribuée à l'écart d'effectif des deux sous-groupes, La différence entre les médianes de BPA n'est pas significative ($p = 0,1$).

- Taux de FSH et TST : **pas de différence** entre les taux moyens de BPA selon le rapport à la norme des hormones ($p = 0,9$ pour la FSH et $p = 0,91$ pour la testostérone).

Vu l'hétérogénéité des résultats obtenus, il n'est pas évident de tirer des conclusions fermes, d'autant plus que la littérature rapporte des résultats tout aussi divergents :

Les résultats de Mendiola *et al.*, ne rapportent aucune relation entre les taux sériques de FSH ou de LH et les concentrations urinaires de BPA ; ils ont, par contre, relevé une association entre le Free Androgen index (FAI) et les concentrations urinaires de BPA [268].

Quant à Hanaoka *et al.*, ils ont indiqué qu'il existait une association inverse, significative, entre les concentrations urinaires de BPA et les taux sériques de FSH. Les niveaux de testostérone libre ne différaient pas entre les groupes [288].

L'hypothèse, concernant l'action du BPA, est qu'il se lie au récepteur des œstrogènes, au niveau de l'hypophyse, entraînant une suppression directe de la sécrétion de FSH ; ceci est étayé, d'une part, par des études ayant mis en évidence la présence de récepteurs d'œstrogènes, au niveau de cette glande et d'autre part, par le fait que l'œstradiol inhibe, directement, la sécrétion de gonadotrophine, au niveau de l'hypophyse [349].

Meeker *et al.* ont observé une corrélation positive entre les taux de BPA et les niveaux d'œstradiol et de TSH [263]. Ces résultats contredisent, cependant, ceux de Liu *et al.* [284] et ceux de Lassen *et al.* [350] qui ont retrouvé une corrélation négative entre les niveaux de BPA urinaires et l'œstradiol.

Il existe de nombreuses études, démontrant les effets œstrogéniques du BPA [104,168] : ce dernier est considéré, par certains auteurs, comme l'un des plus importants toxiques vis-à-vis de la fonction de reproduction [351].

Des études, *in vivo* et *in vitro*, ont montré que le BPA est associé à l'induction d'une toxicité testiculaire, chez les rongeurs nouveau-nés, pubères et adultes [104,168].

Akingbemi *et al.* ont décrit, chez le rat pubère, un effet inhibiteur du BPA, sur la genèse des stéroïdes testiculaires, à de faibles niveaux d'exposition ; cet effet serait médié par les récepteurs d'œstrogènes [351]. En plus de ses effets anti-androgéniques liés au rétrocontrôle négatif de la stéroïdogénèse (et donc, de la production de testostérone), le BPA pourrait, également, agir en empêchant les androgènes endogènes de réguler la transcription androgène-dépendante [168].

La perturbation de l'interaction entre les androgènes et leurs récepteurs est suspectée comme étant à l'origine des effets néfastes sur le système reproducteur masculin, y compris les dysfonctionnements sexuels [16]. Rappelons que, pour notre part, nous n'avons pas observé de corrélation entre les taux de BPA urinaires et les niveaux de testostéronémie.

Mendiola *et al.* ont suggéré que les niveaux de FAI, qui est l'un des marqueurs de la testostérone, biologiquement active, pourraient diminuer sous l'exposition au BPA [268]. Néanmoins, l'ampleur de l'effet du BPA sur les FAI est, généralement, faible [269,352].

Les effets d'une exposition, à long terme, au BPA, chez les hommes adultes, restent méconnus, sans exclure le fait qu'ils peuvent impacter la production d'hormones. Il est, également, important de souligner que l'exposition environnementale ou professionnelle, englobe, certainement, un mélange de perturbateurs endocriniens, et que les effets cumulatifs (effet cocktail) que ces produits chimiques peuvent présenter, sont peu connus [353].

Autres hormones

Liu *et al.* ont observé une corrélation entre le taux de BPA urinaires et le niveau de la prolactinémie [284], ce qui corrobore les résultats des études animales [354–356].

Étant donné que les œstrogènes peuvent stimuler la sécrétion de la prolactine, en agissant au niveau de l'hypophyse [357], il est probable qu'une concentration élevée de BPA contribue à une augmentation du niveau de prolactine. Comme il est possible que le BPA « imite » l'œstradiol et se lie aux récepteurs des œstrogènes. Il peut induire l'expression, la libération et la prolifération des gènes de la prolactine dans les cellules hypophysaires antérieures primaires [29], stimulant, ainsi, la libération de la prolactine.

Il a été retrouvé une corrélation négative entre les taux de BPA et les niveaux d'inhibine B. L'inhibine, synthétisée dans les cellules de Sertoli, reflète, par ses concentrations, la fonction de ces cellules [358]. Des niveaux bas d'inhibine, sont liés à des problèmes d'infertilité, chez l'homme [359].

III.2.1.5. Numération sanguine et hémoglobine (Hb)

Nous avons relevé, chez les sujets exposés :

- Une **absence** de corrélation entre les taux de BPA total et les taux de plaquettes sanguines, de leucocytes et d'hémoglobine ($p = 0,26 ; 0,83 ; 0,26$, respectivement)

L'étude des comparaisons entre les taux normaux et les taux anormaux a donné

- Le taux moyen de BPA plus élevé chez les sujets ayant un taux anormal de plaquettes (moyenne = 5,20 $\mu\text{g/L}$ et médiane = 4,29 $\mu\text{g/L}$; $N = 13$). Sujets ayant un taux normal : (moyenne = 3,15 $\mu\text{g/L}$ et médiane = 0,95 $\mu\text{g/L}$; $N = 149$). La différence **n'est pas significative** ($p = 0,13$ et $0,51$).
- Le taux moyen de BPA plus élevé chez les sujets ayant une hyperleucocytose (moyenne = 3,47 $\mu\text{g/L}$ et médiane = 1,06 $\mu\text{g/L}$; $N = 41$). Sujets ayant un taux de leucocytes normal (moyenne = 3,26 $\mu\text{g/L}$ et médiane = 0,89 $\mu\text{g/L}$; $N = 121$). La différence **n'est pas significative** ($p = 0,80$ et $0,74$).
- Le taux moyen de BPA est plus élevé chez les sujets ayant un taux d'Hb normal (moyenne = 3,43 $\mu\text{g/L}$ et médiane = 1,40 $\mu\text{g/L}$; $N = 92$). Sujets ayant un taux d'hémoglobine inférieur à la norme (moyenne = 3,17 $\mu\text{g/L}$ et médiane = 0,49 $\mu\text{g/L}$; $N = 70$). La différence **n'est pas significative** ($p = 0,73$ et $0,65$).

Nous avons relevé, chez les sujets non exposés : la même tendance d'élévation des taux de BPA dans le sous-groupe à valeurs anormales pour le taux de leucocytes et de plaquettes : (1,27

$\mu\text{g/L}$ Vs $0,96 \mu\text{g/L}$; $p = 0,74$ pour les plaquettes et $1,17 \mu\text{g/L}$ Vs $0,47 \mu\text{g/L}$; $p = 0,07$ pour les leucocytes). Le constant est le même pour les valeurs médianes .La différence n'est pas significative dans les deux situations (p allant de $0,30$ à $0,76$).

A/ Répartition du BPA dans le compartiment sanguin

L'évaluation de l'exposition humaine au BPA repose, principalement, sur la mesure des concentrations plasmatiques ou sériques [232], cependant, quelques études ont déterminé les concentrations de BPA dans le sang total [360].

Les bisphénols (BP) peuvent présenter différents potentiels de partage entre le plasma et les globules rouges ; la seule surveillance des BP sériques ou plasmatiques, peut sous-estimer, considérablement, l'étendue de l'exposition. Jin *et al.* ont mesuré, chez 81 sujets, les concentrations sanguines de neuf BP afin d'examiner leur répartition entre le plasma et les hématies. La proportion plasmatique, la plus élevée (56%) concernait le BPS [232].

B/ Plaquettes sanguines

Quelques études se sont intéressées à l'impact de l'exposition au BPA sur les plaquettes sanguines. Dans les plaquettes, l'acide arachidonique est converti, d'une part, en thromboxane A2 et en 12-hydroxy-5, 8,10 -heptadécatriénoïque (12- HHT), par la voie de la cyclooxygénase et, d'autre part, en 12 -hydroxy-acide 5, 8, 10,14 -eicosatétraénoïque (12- HETE), par la voie de la lipoxygénase.

Fujimoto *et al.* n'ont constaté aucun effet du BPA, du di-n-butyl phthalate (DBP) et du benzyl-n-butyl phthalate (BBP), sur la formation des métabolites de la cyclooxygénase et de la 12 -lipoxygénase. Il faut souligner que l'étude portait sur de faibles concentrations de BPA ($100 \mu\text{M}$) ; de plus forte concentrations pourraient aboutir à des résultats différents [361].

L'adhésion, l'étalement et l'agrégation plaquettaire sont des marqueurs d'activation des plaquettes Les motifs activés des plaquettes adhérentes peuvent être classés en cinq classes : discoïde ou rond ; dendritique ; pseudopode précoce, pseudopode intermédiaire et pseudopode entièrement étalé [362].

Abdulmajeed *et al.* ont déposé des plaquettes, à la surface d'un polymère constitué de BPA, et constaté que ces plaquettes se trouvaient, alors, dans un état activé inférieur (dendritique). Déposées à la surface d'un composite de verre, elles présentaient un état plus activé (pseudopode intermédiaire). La conclusion était que le temps de coagulation était beaucoup plus élevé pour le polymère, à base de BPA que pour le composite en verre [362].

C/ Leucocytes

Peu d'études rapportent les effets directs du BPA sur les leucocytes humains, cellules effectrices de la réponse immunitaire innée et de la première ligne de défense contre les infections. Les neutrophiles seraient une cible potentielle importante du BPA.

Une expérimentation, sur souris traitées par le BPA, a démontré l'aggravation de l'infection à *Escherichia coli*. Les neutrophiles isolés de ces animaux présentaient une capacité

phagocytaire réduite ; de ce fait, les auteurs suggèrent que le BPA favorise le stress oxydatif dans les neutrophiles humains [363].

III.2.2. Qualité spermatique

Comme attendu, nous n'avons pas pu recueillir de données spermatiques, chez les travailleurs, qui n'ont pas consenti au prélèvement.

La littérature rapporte quelques données quant à l'impact de l'exposition au BPA sur la qualité du sperme.

Li *et al.* ont constaté qu'un taux de BPA urinaire, élevé était, significativement, corrélé à une faible qualité du sperme (concentration, numération, vitalité et motilité). Lors de cette étude, Il y avait une corrélation significative entre le BPA urinaire et la concentration de sperme et le nombre total de spermatozoïdes, chez les sujets non exposés, professionnellement (exposition générale) [262].

On a rapporté une corrélation significative entre un taux de BPA urinaire élevé et une faible numération de spermatozoïdes, avec des dommages au niveau de l'ADN, chez des hommes sous-fertiles ; ces derniers pourraient être plus sensibles aux effets liés au BPA que les sujets normaux [364].

Lors de l'enquête « The Study for Future Families (SFF) », menée, chez des hommes fertiles, les taux élevés de BPA urinaire étaient corrélés à une réduction du volume séminal [268].

III.2.3. Fonction sexuelle

Chez nos travailleurs exposés, Le taux moyen de BPA est plus élevé chez les sujets présentant une infertilité primaire (3,47 µg/L ; N=15) ou secondaire (3,57 µg/L ; N= 8) mais la différence n'est pas significative (p=0,96). La médiane est, également, plus élevée chez les sujets présentant une infertilité primaire (2,6 µg/L ; N= 15) et des troubles de la libido (2,57 µg/L. N= 10) ; cependant, **aucune association significative** n'a été retrouvée (p = 0,96 pour la moyenne et p = 0,43 pour la médiane).

De même pour les travailleurs non exposés, les 2 sujets ayant, l'un ; un trouble de l'infertilité primaire et, l'autre, des troubles de la libido présentent, respectivement, un taux de BPA de 3,27 µg/L et de 3,31 µg/L ; taux supérieurs à ceux des sujets déclarant n'avoir aucun trouble (taux moyen de BPA de 0,92 µg/L).

Deux études de cohorte, menées par Li *et al.* ont examiné la fonction sexuelle masculine auto déclarée, chez des travailleurs chinois, exposés au BPA (fabrication de BPA et de résine époxy). Ces derniers présentaient une fonction sexuelle, significativement, plus faible que celle des témoins (fonction érectile, fonction orgasmique, désir sexuel, satisfaction globale à l'égard de la vie sexuelle) [269,270].

Il convient de noter que le groupe témoin de cette étude (exposition environnementale), a, également, montré des corrélations négatives significatives pour quelques-uns de ces paramètres (désir sexuel, satisfaction globale à l'égard de la vie sexuelle), indiquant que

l'exposition au BPA pourrait réduire la fonction sexuelle masculine dans la population générale, pourtant, plus faiblement exposée au BPA que celle des travailleurs des industries du plastique [269,270].

Les résultats, non significatifs, de notre étude pourraient être liés aux données pouvant être biaisées, lors du recueil des informations auprès des travailleurs, en raison de considérations socio-culturelles, notamment, conservatrices au regard de questions intimes.

III.3. Risque de l'exposition au BPA, chez les travailleurs professionnellement exposés

Dans cette étude, nous avons exploré le risque de survenue d'effets néfastes possibles sur la santé humaine, associée à une exposition accrue au BPA, en milieu de travail.

III.3.1. Données comparatives des deux groupes de travailleurs

III.3.1.1. Bisphénol A

- **BPA total** : Notre étude a révélé une concentration moyenne de BPA urinaire total, plus élevée (plus du triple), chez les travailleurs exposés, que chez les sujets non exposés (3,24 µg/L Vs 1,00 µg/L ; p = 0,001) ; de même pour les valeurs médianes (0,84 µg/L Vs 0,05 µg/L ; p = 0,004),

Les valeurs du troisième percentile 75 étaient de 5,06 µg/L chez le groupe exposé et de 1,53 µg/L chez le groupe témoin (**Figure 80 et 81**).

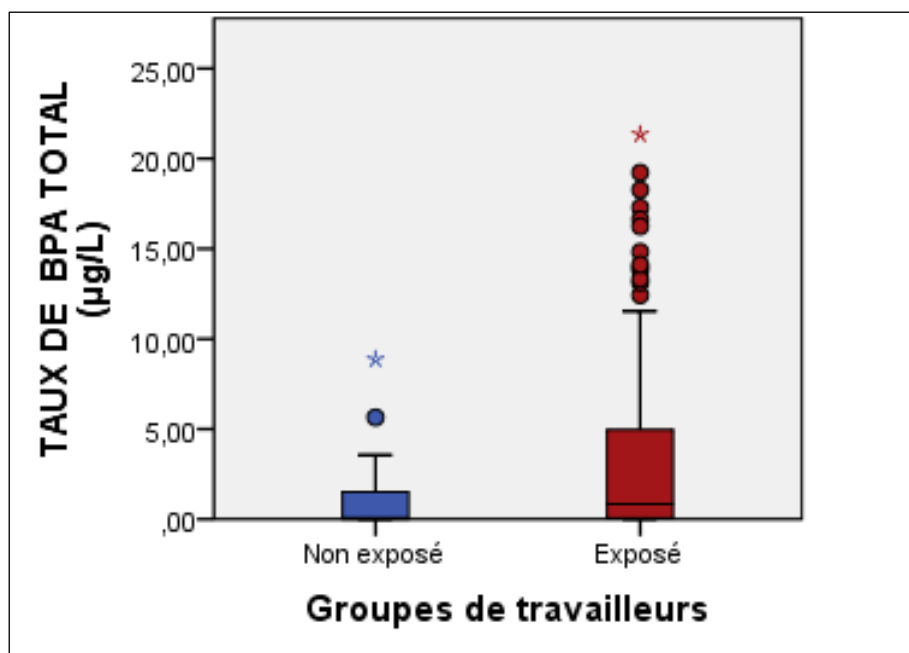


Figure 80 : Distribution des taux de BPA total ($\mu\text{g/L}$) chez les travailleurs

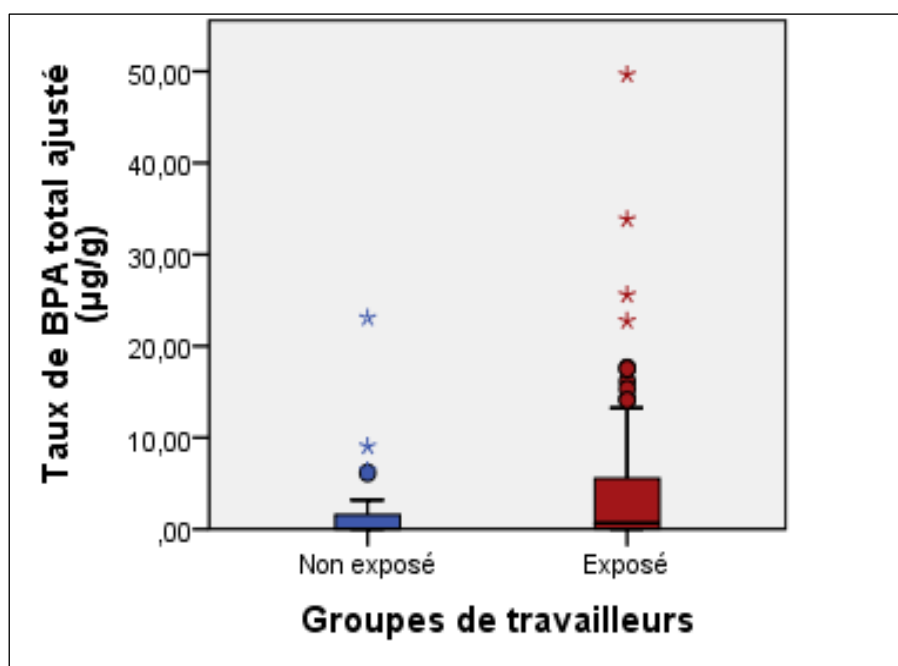


Figure 81 : Distribution des taux de BPA total ajusté ($\mu\text{g/g}$) chez les travailleurs.

- **BPA libre** : La concentration moyenne de BPA urinaire libre, est plus élevée, chez les travailleurs exposés, que chez les sujets non exposés ($0,31 \mu\text{g/L}$ Vs $0,09 \mu\text{g/L}$; $p = 0,12$). Les valeurs des médianes n'étaient pas exploitables car nulles.

La différence entre ces taux, est vraisemblablement attribuée à la forte exposition au BPA qui est très utilisé dans l'industrie du plastique. Ce résultat suggère aussi que les travailleurs de cette industrie, présenteraient plus de risque d'effets néfastes par rapport à une population active non exposée.

III.3.1.2. Bilan biologique

A/ Glycémie

Le taux moyen de glycémie était plus élevé, chez les sujets exposés (0,93 g/L) que chez les sujets non exposés (0,81 g/L), la différence étant significative avec un $p = 0,01$; de même pour la médiane (0,87 g/L Vs 0,79 g/L ; $p = 0,02$) (**figure 82**).

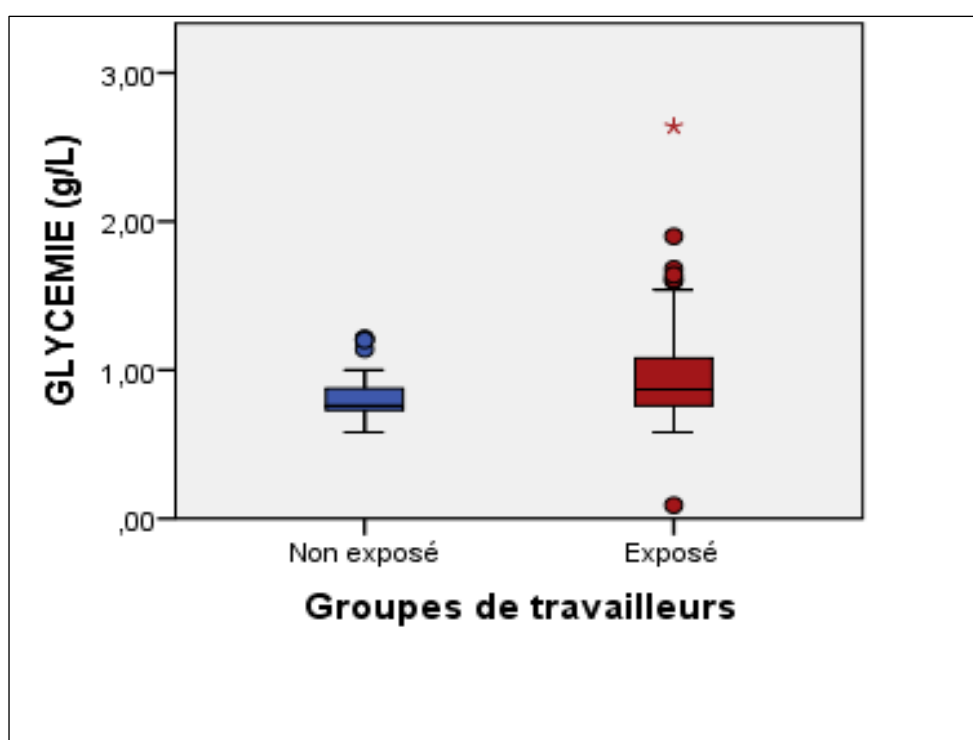


Figure 82 : Distribution de la glycémie à jeun.
Travailleurs exposés et sujets non exposés au BPA.

Rappelons qu'il a été rapporté que l'exposition, à un niveau élevé de BPA, pouvait provoquer un stress oxydant et une perturbation de la fonction des cellules β pancréatiques, entraînant une altération de la production d'insuline et de la régulation du glucose [345].

B/ Triglycérides

Le taux moyen de triglycérides était plus élevé, chez les sujets exposés (1,68 g/L) que chez les sujets non exposés (1,50 g/L), la différence étant significative avec un $p = 0,001$; de même pour la médiane (1,65 $\mu\text{g/L}$ Vs 1,43 $\mu\text{g/L}$; $p = 0,003$) (**figure 83**).

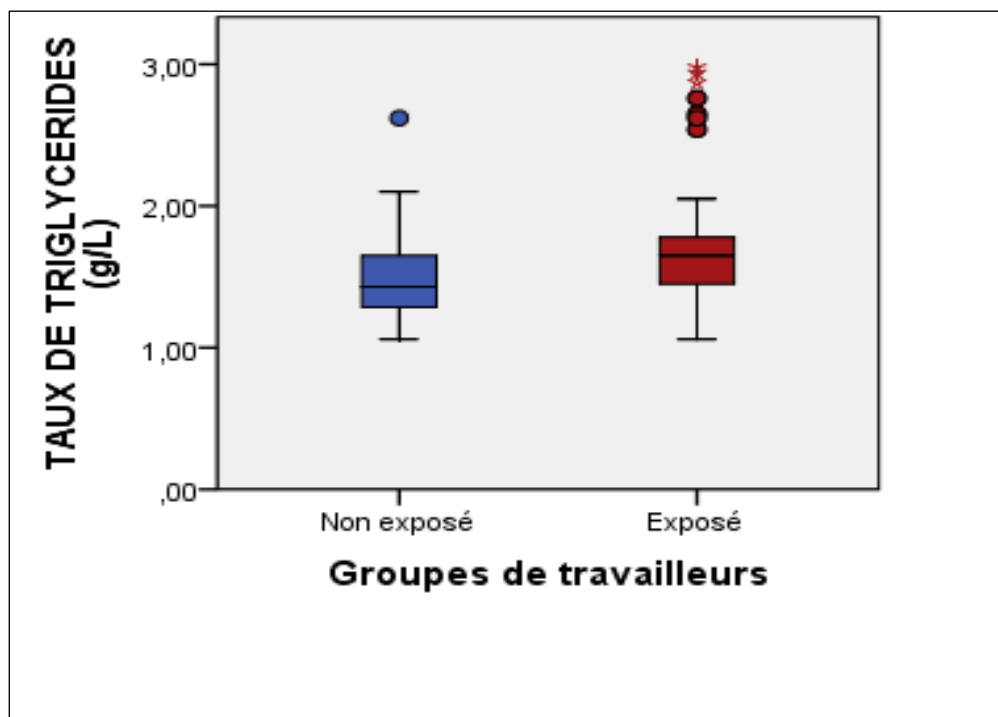


Figure 83 : Distribution du taux de triglycérides.
Travailleurs exposés et sujets non exposés au BPA.

La différence de poids et d'IMC, entre les deux groupes, n'étant pas significative, l'élévation des taux de TG et de glucose, pourrait être imputée à l'exposition au BPA.

C/ Plaquettes

Le taux moyen de plaquettes était plus élevé, chez les sujets exposés ($223 \cdot 10^3/\mu\text{L}$), que chez les sujets non exposés ($167 \cdot 10^3/\mu\text{L}$), la différence étant significative avec un $p = 0,001$, de même pour la médiane ($212 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ Vs $167 \cdot 10^3/\mu\text{L}$; $p = 0,01$) (**figure 84**).

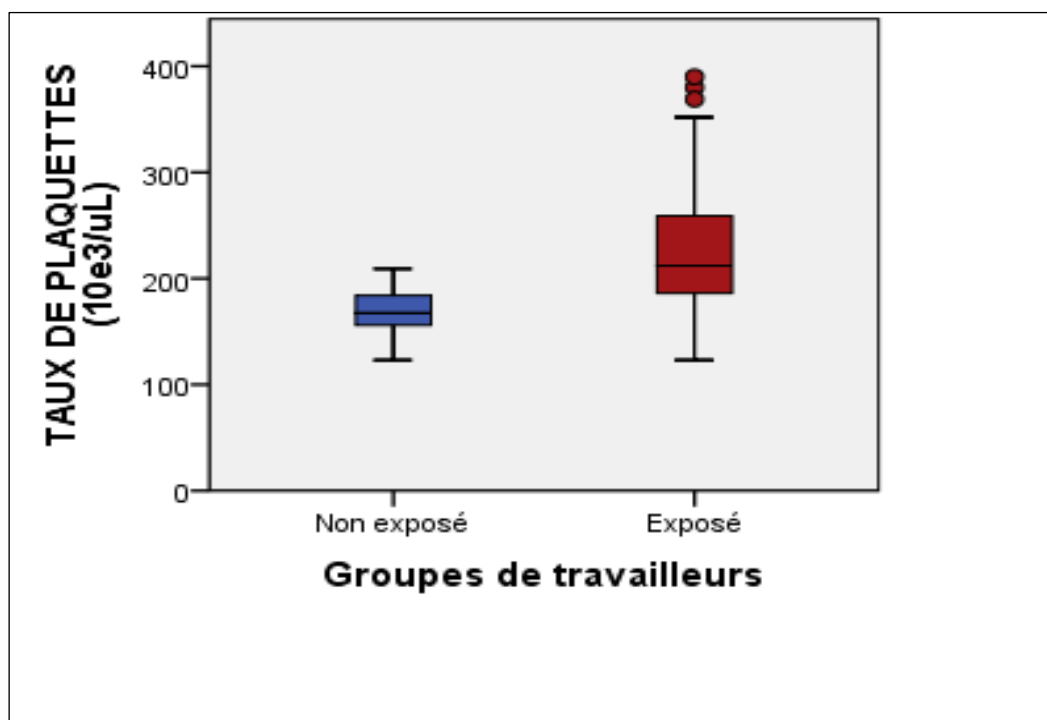


Figure 84 : Distribution du taux de plaquettes sanguines.
Travailleurs exposés et sujets non exposés au BPA.

D/ Hormones

Nous avons noté, chez les sujets exposés, une diminution des taux moyens de FSH (5,89 Vs 10,89 mUI /mL), de LH (4,42 Vs 4,60 mUI /mL) et de testostérone (5,81 Vs 6,01 mUI /mL). Seule, la différence des taux de FSH (sujets exposés et non exposés) était significative ($p = 0,001$) (**figure 85 à 87**).

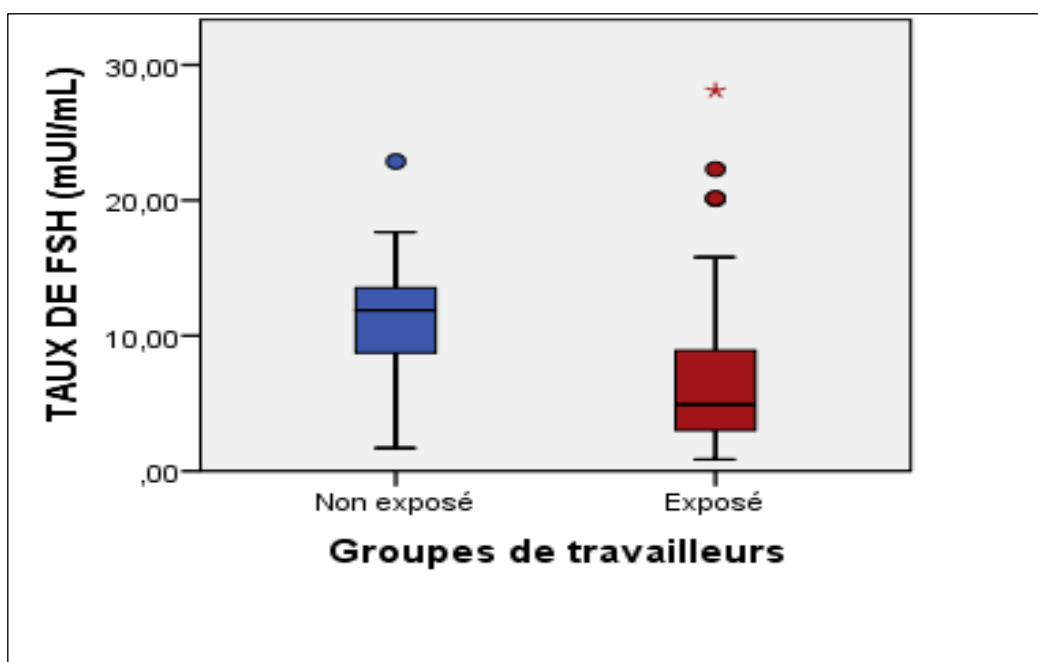


Figure 85 : Distribution des taux de FSH. Travailleurs exposés et sujets non exposés au BPA.

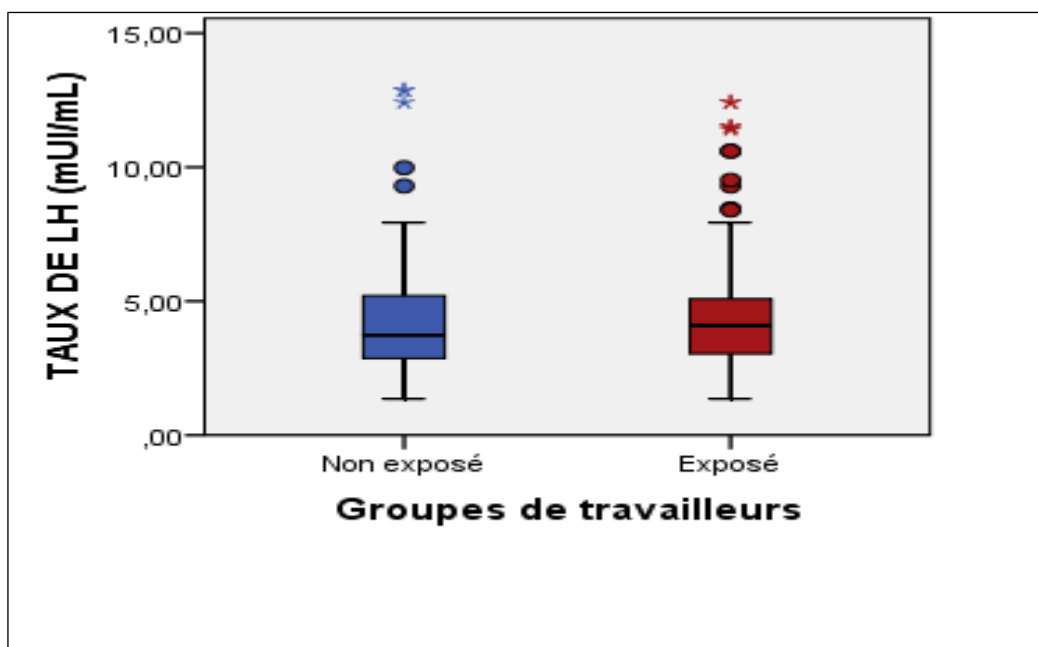


Figure 86 : Distribution des taux de LH. Travailleurs exposés et sujets non exposés au BPA.

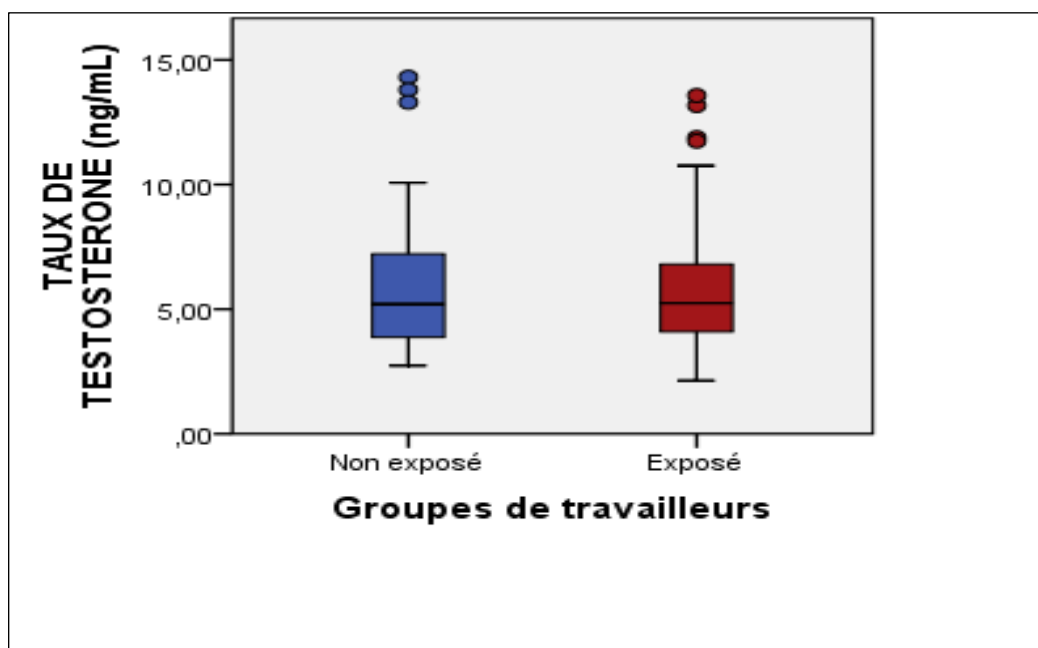


Figure 87 : Distribution du taux de testostérone. Travailleurs exposés et sujets non exposés au BPA.

Nos résultats concordent avec ceux d'Hanaoka *et al.* qui ont noté, également, une diminution significative des taux de FSH et non significative des taux de LH et de testostérone, chez les sujets exposés [288].

La problématique de la co-exposition peut se poser, attendu que l'exposition à d'autres produits chimiques, peut exercer un effet sur la reproduction masculine, en milieu professionnel. C'est, potentiellement, le cas de certains solvants organiques [288].

Morck *et al* ont observé une diminution des concentrations de FSH, chez les travailleurs masculins exposés au toluène [365].

Il convient de préciser que, l'entreprise, objet de notre étude, emploie des agents destinés au durcissement de la résine époxy, qui renferment des solvants organiques ; il reste, cependant, à évaluer les niveaux d'exposition et les effets de ces solvants.

III.3.2. Risque de l'exposition (odds ratio)

Rappelons qu'un odds ratio (OR) supérieur à 1, signifie que l'événement est plus fréquent dans le premier groupe (exposé) que dans le second groupe (non exposé). Un OR inférieur à 1, signifie que l'événement est moins fréquent dans le premier groupe que dans le second groupe (Cf. **tableau 43** de la section II.4. Estimation de l'odds ratio). L'événement concerne, principalement, la survenue d'un dysfonctionnement biologique.

III.3.2.1. Troubles de la fertilité

L'OR évaluant le risque rapporté au nombre d'enfants n'est pas significatif ; il est, toutefois, supérieur à un : OR = 1,55 (IC 95% = 0,17 - 2,30), $p = 0,363$.

Quant au risque de présenter des **troubles de la fertilité**, il est beaucoup plus élevé : **OR=4,17 (0,07- 5,81)**, $p = 0,008$. Notre résultat concorde avec à ceux de la littérature.

L'étude de Li *et al.* retrouve, également, des OR élevés : risque de difficulté à éjaculer (OR = 7,1 ; IC 95% : 9 - 17,6), troubles de l'érection (OR = 4,5 ; IC 95 % : 1 - 9,8), diminution du désir sexuel (OR = 3,9 ; IC 95 % : 1,8 - 8,6). Les travailleurs, de cette étude, exposés au BPA, à l'exclusion de tout autre agent, affichèrent des fréquences d'altération de la fonction sexuelle, significativement élevées, dès la première année de travail [262].

Rappelons que le risque de développer des troubles de la fertilité, chez les sujets exposés au BPA, est confirmé par une multitude d'études, *in vivo* et *in vitro* [104, 168, 271,272].

III.3.2.2. Impact sur les taux de LH

L'odds ratio est de : 0,32 (0,02-1,26), $p = 0,26$.

Cet odds ratio est inférieur ; Liu *et al.* rapportent un OR de 0.83 (0.57–1.41) [284]. Les différences relatives aux circonstances des études (taille de l'échantillon...), pourraient influencer l'écart entre les OR.

III.3.2.3. Impact sur les taux de FSH

L'odds ratio est de : **1,99 (0,90- 4,42)**, $p = 0,058$.

Le risque d'impact sur le taux de FSH est élevé, proche de deux, Liu *et al.* rapportent un OR, plus bas, de 1,22 (0,78–1,90) [284].

Rappelons que l'implication du BPA semble probable, dans la perturbation hormonale du processus reproductif, suite à l'interaction entre les androgènes et leurs récepteurs [16].

III.3.2.4. Impact sur les taux de testostérone

L'odds ratio est de : 0,68 (0,20- 2,29), $p = 0,369$

L'odds ratio est inférieur à un ; il diffère de celui retrouvé par Liu *et al.* : 1.34 (0.89–2.01) [284]. Rappelons que les sujets présentant une testostéronémie anormale, sont, en proportion, peu nombreux, dans les deux groupes de travailleurs (6%, dans le groupe exposé et 8%, dans le groupe témoin).

III.3.2.5. Indice de masse corporelle (IMC)

Dans notre étude, le risque obésogène du BPA, chez les sujets exposés, n'est pas établi ; l'odds ratio est inférieur à un : 0,66 (0,35-3,08), $p = 0,143$. Ce résultat est différent de celui des études d'Eng *et al.* [366] et de Bhandari *et al.* [367] qui, rapportent, respectivement, des OR de 1,74 (1,17–2,60) et de 1,57 (1,07 –2,88).

Bien qu'il y ait des controverses autour de l'association développement pondéral / exposition au BPA [368,369], le BPA semble être impliqué dans la survenue de troubles pondéraux.

III.3.2.6. Impact sur les taux de glycémie

Les sujets non exposés présentent, tous, des valeurs normales quand 30% des sujets exposés présentent des taux supérieurs à la norme. Le risque de survenue d'une hyperglycémie, chez les sujets exposés, n'est pas à écarter.

La revue de Silver *et al.* rapporte des OR, proche de un, dans les études américaines NHANES,: 1,06 (0,94-1,20) pour NHANES 2003-2004 ; 1,06 (0,95-1,18) pour NHANES 2005-2006 et 0,98 (0,90 -1,07) [197]. Une étude coréenne rapporte un OR de 1,00 (0,65-2,33) [194]. Il convient de signaler que ces études rassemblaient plus de 4300 sujets et que le bilan glycémique englobait le dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c), paramètre que nous n'avons pu déterminé dans notre étude.

Rappelons, qu'il a été prouvé expérimentalement que le BPA modifie la fonction des cellules β pancréatiques et qu'il peut être considéré comme un facteur de risque de diabète de type 2: Cet effet est médié par la protéine Er β , un récepteur des œstrogènes. 1 nM de BPA diminue la libération d'insuline dans les cellules β pancréatiques de souris standards mais pas chez des souris privées du gène ER β . Les chercheurs aboutissent à la même conclusion sur les cellules β et les îlots entiers de Langerhans humains [348]. Ces données pourraient être extrapolées, chez les humains ; le BPA devrait être considéré comme un facteur de risque de troubles métaboliques chez l'Homme.

III.3.2.7. Impact sur les taux de cholestérol

L'odds ratio est de : 0,84 (0,31-2,24), $p = 0,45$

Nous relevons, un OR, proche de un, mais non significatif. Notre valeur d'OR est inférieure à celles de la littérature. Wang *et al.* retrouvent un OR élevé : 1,75 (1,03-2,95) [370]. Li *et al.* rapportent un OR, plus élevé : 2,76 (1,21-6,29) [371].

La différence, par rapport à notre étude, pourrait être expliquée, encore une fois, par la différence de l'échantillonnage qui reste élevé dans ces deux études (1872 sujets dans la première et 574 dans la deuxième).

III.3.2.8. Impact sur les taux de triglycérides

L'odds ratio est de : **3,88 (1,99-7,58), $p = 0,001$.**

Nous relevons, un OR, significativement, élevé. Ceci dénote un risque réel. Notre taux est supérieur à celui de l'étude de Wang *et al.*, avec un OR = 1,74 (0,85-3,56) [370].

Il faut signaler que la médiane de TG, plus représentative, est plus élevée, dans notre étude (1,65 g/L pour le groupe exposé et 1,43 g/L pour le groupe témoin), contre 1,12 g/L, dans l'étude de Wang *et al.* [370].

III.3.2.9. Impact sur la numération sanguine et le taux d'hémoglobine

Nous relevons, de faibles OR pour le taux de plaquettes, de leucocytes et d'hémoglobine (0,36 ; 0,67 ; 0,63). Les études de la littérature manquent quant à l'estimation de ce risque.

Le tableau 49 résume les OR relevés dans la littérature et impliquant, potentiellement, le BPA, dans quelques pathologies.

Tableau 49 : Odds ratio : pathologies associées aux taux élevés de BPA

<i>Pathologies</i>	<i>Odds Ratio</i>		
	<i>Littérature</i>	<i>Références</i>	<i>Notre étude</i>
Cancer	1.12 (0.85 - 1.48), p = 0,38	Lang <i>et al.</i> [190]	-
Troubles hépatiques	0,77 (0.40 - 1.49), p = 0,42		-
Troubles thyroïdiens	1.13 (0.89 - 1.43), p = 0,30		-
Troubles cardiovasculaires	1.36 (1.16 - 1.60), p =0,001		-
Troubles hormonaux			
Prolactine	1.58 (0.97–2.56), p =0,001	Liu <i>et al.</i> [284]	-
FSH	1.22 (0.78–1.90), p =0,05		1,99 (0,90 - 4,42), p = 0,05
Œstradiol	0.79 (0.50–1.27), p =0,002		-
Troubles du bilan lipidique			
Triglycérides	1,74 (0,85-3,56), p =0,01	Wang <i>et al.</i> [370]	3,88 (1,99 - 7,58), p= 0,001
Cholestérol	1,75 (1,03-2,95), p =0,22		0,84 (0,31- 2,24), p= 0,45
LDL	1,15 (0,56-2,35), p =0,75		-
HDL	0,90 (0,56-1,45), p =0,87		-
Troubles du bilan glucidique			
Hyperglycémie	1.40 (1.21 - 1.63), p = 0,001	Lang <i>et al.</i> [190]	-
	0,98 (0,90- 1,07), p = 0,03	Silver <i>et al.</i> [197]	
	1,22 (0,65-2,30), p = 0,14	Kim <i>et al.</i> [194]	
Troubles de la fertilité			
Troubles à l'éjaculation	7,1 (9 - 17,6), p =0,001	Li <i>et al.</i> [262]	4,17 (0,07 - 5,8), p = 0,008
Troubles de l'érection	4,5 (1 - 9,8), p =0,001		
Troubles du désir	3,9 (1,8 - 8,6), p=0,001		

III.4. Atouts et limites de l'étude

Atouts

- Les niveaux urinaires en BPA ont été quantifiés par une **méthode validée**, donc moins susceptible de donner lieu à un biais de mesure.
- La **taille, relativement importante, de l'échantillon** des sujets a permis d'ajuster un certain nombre de facteurs de confusion potentiels.
- L'étude, portant, sur une population, professionnellement, exposée à des **niveaux significatifs de BPA**, a permis d'examiner les associations et les risques sanitaires qui ne seraient pas mis en évidence dans une population, faiblement, exposée.
- Enfin, nous avons pris des sujets exposés et non exposés provenant de la même région tout en s'assurant de l'absence de différence, entre les deux groupes quant aux facteurs de risque ou d'exposition générale (IMC, tabagisme, alcool, pose récente de composite dentaire). **Le biais de sélection d'échantillonnage est, à priori, écarté.** Par conséquent, il semble peu probable que les associations observées entre la concentration urinaire de BPA et les niveaux sériques d'hormones sexuelles puissent être expliquées par le biais de participation.

Limites

- Concernant les réponses aux questions portant sur l'intimité des travailleurs, le biais est évident quant à la véracité de l'information fournie, sachant les tabous attachés à ces questions.
- Le BPA est, très rapidement, métabolisé, avec un taux d'élimination de quelques heures. L'échantillon urinaire ponctuel, prélevé, dans notre étude, donne des taux de BPA, reflétant, uniquement des expositions récentes. Les prélèvements urinaires ont été effectués, chez les sujets exposés, tantôt, avant le poste de travail, tantôt, après le poste de travail ; de ce fait, les taux mesurés sur les urines « d'avant-poste », pourraient être sous-estimés par rapport à l'exposition réelle.
- En étude transversale, les associations, que nous avons observées, peuvent refléter l'exposition récente au BPA et les changements biologiques, instantanés, plutôt que les changements, à long terme (hormonaux...). La principale limite de l'étude transversale est la durée limitée de l'investigation, ce qui permet d'appréhender les seuls phénomènes présents au moment de l'étude.
- Nous avons prélevé, la quasi-totalité du personnel de l'entreprise de matières plastiques (170/180 sujets) et la cinquantaine de témoins que nous avons pu recruter. Un effectif plus élevé aurait permis d'introduire plus de puissance dans le traitement des données et affiner les tendances établies dans nos résultats. Ces derniers, restent, toutefois, pertinents et demeurent en accord avec les données de la littérature.

Conclusion

CONCLUSION

L'ensemble des études, menées sur l'impact du BPA, présentent des divergences quant aux tendances des résultats retrouvés ; cependant, toutes les conclusions convergent vers l'impact réel de l'exposition au BPA sur la santé humaine.

Notre étude évoque, explicitement, une plus forte exposition au BPA, en milieu professionnel par rapport à la population générale. Il existe une corrélation positive entre l'âge des sujets exposés et les niveaux d'exposition, témoignant d'un probable effet cumulatif.

De même que des différences significatives sont relevées, entre sujets exposés et sujets non exposés, à l'examen des moyennes et médianes de la glycémie, des triglycérides et des plaquettes ; les valeurs, les plus élevées, étant attribuées au groupe exposé.

Les taux hormonaux (FSH, LH, testostérone) sont plus bas, chez les sujets exposés, sans que les différences, avec les témoins, soient significatives, à l'exception des taux de FSH. Chez les travailleurs exposés, les taux urinaires de BPA corrélaient, significativement, ceux de FSH.

Au vu de ces données, il est impératif de prendre en considération les conditions des travailleurs qui exercent au sein des industries du plastique, afin de planifier de manière prioritaire, des actions de protection et de contrôle, visant une gestion sanitaire, notamment, un cadre réglementaire efficace.

Au niveau professionnel, l'historique médical des expositions professionnelles à un toxique constitue le principal outil de diagnostic des maladies professionnelles. Le diagnostic correct d'une pathologie, imputée à une exposition spécifique à un toxique, permet un traitement approprié des travailleurs affectés et fournit une base pour la reconnaissance d'autres travailleurs exposés.

Par ailleurs, une stratégie de prévention concernerait, aussi, la population générale, en :

- Limitant l'exposition au BPA, des groupes vulnérables, tels que les enfants et les femmes enceintes.
- Restreignant, voire interdisant l'utilisation de matériaux renfermant du BPA dans les contenants alimentaires et produits pour bébés et de puériculture.
- Limitant l'usage des produits d'étanchéité pour fissures dentaires, fréquemment, utilisés de nos jours, à titre préventif, pour réduire le risque de carie chez les enfants et les adultes.
- Promouvant les campagnes d'information et de sensibilisation sur le BPA et les perturbateurs endocriniens, à travers les médias, les réseaux sociaux et des manifestations dédiées.

S-PARTIE 2/ :

***IMPACT DE L'EXPOSITION AU BISPHEENOL A SUR
LA FERTILITE DE LA SOURIS SWISS MALE***

Objectifs

L'évaluation des risques toxicologiques et des effets potentiels sur la santé humaine repose, principalement, sur des études expérimentales qui doivent être, méthodologiquement, robustes et fournir des informations, sur les voies et les niveaux d'exposition, pertinentes pour les humains.

Plusieurs études expérimentales furent menées dans le but d'évaluer les effets des perturbateurs endocriniens ; effets variables, selon la période d'exposition. Les experts estiment important de bien caractériser l'influence de ces périodes et leur concordance avec les fenêtres de susceptibilité, qui ne sont pas, toujours, connues.

Notre étude s'inscrit dans cette démarche d'exploration des effets de l'exposition au bisphénol A (BPA), sur la fertilité masculine. L'objectif primaire est de tester certaines doses de BPA et la réalité de leurs effets sur les performances de reproduction, chez des souris mâles : fonction génitale, comportement lors de l'accouplement et, par suite, conception et gestation, chez la femelle.

La méthodologie opératoire s'appuie sur les résultats des données humaines disponibles, ainsi que sur des données animales obtenues, le plus souvent, à des doses inférieures à la NOAEL (**dose sans effet, de 5 mg/kg/j**) ayant servi à dériver la DJA du BPA, établie à **50 µg/kg/j**. De nouvelles données et des méthodologies affinées ont conduit les experts de l'EFSA (European Food Safety Authority) à réduire, considérablement, le niveau de cette DJA, qui passe de 50 µg/kg/j à **4 µg/kg/j**.

Cependant, on estime que l'exposition alimentaire, combinée à d'autres sources (poussières, cosmétiques, papier thermique..), se situe à un niveau, de trois à cinq fois, inférieur à cette nouvelle DJA [109].

Nous avons choisi de baser notre étude sur des doses inférieures à la NOAEL et avoisinant l'ancienne DJA, afin de pouvoir rapporter nos résultats à ceux de la littérature.

CHAPITRE I : MATÉRIELS ET MÉTHODES

Le protocole de l'étude suit la « ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques : OCDE 415 : Étude de toxicité de la reproduction sur une génération » [372].

Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques : OCDE 415.

But

L'objectif de cette étude est d'évaluer les effets d'une substance sur les performances de reproduction des mâles et des femelles, telles que la fonction génitale, le cycle œstral, le comportement lors de l'accouplement, la conception, la gestation, la parturition, la lactation et le sevrage.

Animaux d'expérience

Au moins une espèce est expérimentée, généralement le rat. Il est conseillé d'utiliser un nombre suffisant d'animaux, afin d'obtenir, au moins, 20 femelles gravides.

Programmes expérimentaux

Le traitement doit être appliqué en phase de gamétogenèse, avant l'accouplement : 3 semaines pour le rat femelle et 10 semaines pour le rat mâle. Les animaux sont identifiés et accouplés selon un rapport 1 : 1 (un mâle pour une femelle) ou 1 : 2 (un mâle pour deux femelles).

Le traitement se poursuit pendant l'accouplement ; les mâles sont sacrifiés après l'accouplement et les femelles, après le sevrage.

Observations

- Pendant l'étude : signes de toxicité, mortalité, comportement pendant la gestation, poids corporel, consommation de nourriture, durée de gestation parturition.
- Après la naissance : mortalité à la naissance, nombre et sexe des petits ; poids à la naissance et à J4, puis, chaque semaine jusqu'à la fin de l'étude : développement physique ; malformations ou anomalies ; fonctions sensorielles et réflexes ; survie jusqu'à 1 semaine.
- Examen terminal : examen macroscopique des adultes et des nouveau-nés, examens histologiques des organes de reproduction des adultes (testicules, épидидymes, vésicules séminales, prostate), isolement des autres organes pour examen histologique éventuel.

Rapport des données

Les résultats doivent être évalués d'après les effets observés et en fonction des doses auxquelles on observe ces effets. Ces études doivent fournir une estimation satisfaisante d'une dose sans effet toxique et permettre d'évaluer les effets nocifs sur la reproduction et, éventuellement, la parturition, la lactation et la croissance postnatale des nouveau-nés.

I.1. Sujets

I.1.1. Effectif

Cinquante (50) souris SWISS Albinos, mâles, adultes (âgées de 60 jours) ont été réparties en cinq groupes de dix (10), chacun : quatre (4) groupes à exposer et un groupe témoin.

Cinquante souris (50) SWISS Albinos, femelles adultes (âgées de 60 jours) ont été réparties, de la même façon, en cinq groupes de dix (10), chacun : quatre (4) groupes recevant les mâles exposés et un groupe, les mâles témoins.

I.1.2. Conditionnement et chronologie opératoire

Ces souris ont été élevées dans l'unité d'animaux du département de Pharmacie de Constantine, à une température (20°C) et humidité (40%) contrôlées ; cycle de 12 heures de lumière et d'obscurité. La nourriture et l'eau sont disponibles *ad libitum*.

- La nourriture provenait de l'Office National des Aliments du Bétail (ONAB) de la wilaya de Béjaïa.

Les bouchons sont composés à : 45% de maïs, 37% de son, 15% de soja, 2,5% de carbonate de calcium, 0,5% de phosphate dicalcique, 0,25% de concentré vitaminique.

- L'eau de robinet était conditionnée dans des biberons en polyéthylène.
- Le matériel (cages et biberons) provenait du laboratoire de Parasitologie – Mycologie du Centre Hospitalo-Universitaire de Constantine.

La composition du matériel n'a pas été testé (détermination d'œstrogènes, BPA), mais nous avons supposé que tous les animaux étaient exposés aux mêmes niveaux, négligeables, de BPA et de phytoestrogènes.

L'étude expérimentale s'est déroulée au laboratoire de Toxicologie – CHU Constantine. La chronologie était la suivante :



Tous les animaux de l'expérience ont été traités conformément aux directives internationales et locales, relatives au soin et à l'utilisation des animaux de laboratoire.

Les animaux étaient accouplés selon un rapport 1 : 1 (un mâle pour une femelle). Ils ont été laissés ensemble, pendant **10 jours**, période couvrant, à priori, deux cycles d'œstrus.

Le traitement s'est poursuivi pendant la période d'accouplement. Les mâles étaient sacrifiés après l'accouplement ; les femelles étaient sacrifiées, 10 jours après l'accouplement.

I.2. Réactifs

- Bisphénol A, poudre : BPA, CAS no. 80-05-7, pureté > 99.5%. Sigma-Aldrich Chemical Company® (St. Louis, MO, USA).
- Ethanol absolu. Panreac® (Barcelone, Espagne) lot 0000581489
- Ether diéthylique Sigma-Aldrich chemical company® lot 0034876
- Solution de conservation Ringer, constituée de :

Chlorure de calcium (CaCl ₂)	0,3 g
Chlorure de potassium (KCl).....	0,25 g
Chlorure de sodium (NaCl).....	6,5 g
Bicarbonate de sodium (NaHCO ₃)	0,2 g
Eau distillée.....	1L
- Formol à 34.5%. Sigma-Aldrich, lot #SZBBG0070V
- Acide chlorhydrique à 37%, lot 345578
- Toluène 99,8% , Sigma-Aldrich ® lot 23Y8098
- Carbonate de lithium, Sigma-Aldrich ®
- Paraffine, Biomérieux ®
- Gel de silice, Merck ®
- Hématoxyline de Harris, Surgipath®, lot 3801561E.
- Glycérine
- Eosine
- Baume du Canada

I.3. Matériel (figure 88)

- Cages en plastique et métal pour les souris (40 cm x 25 cm)
- Sondes de gavage pour souris.
- Balance électronique. Scaltec instruments® Réf 81106548.
- Microscope optique pour l'étude histologique des organes, Leica® Ref. 2016552.
- Microscope optique pour la numération spermatique, Leica® Ref. DM1000.
- Trousse de dissection (ciseaux, pinces, aiguilles)
- Cellule de Thoma, Blutzählkammer®
- Lamelle 24 mm x 24 mm
- Microtome Fischer Scientific® Réf A14GH987
- Appareil Mini vidas Biomerieux®, réf ACPJI0764. Dosage hormonal, par Enzyme Linked Fluorescent Assay. Laboratoire Ibn Sina. Constantine.



Cage pour souris



Sonde de gavage



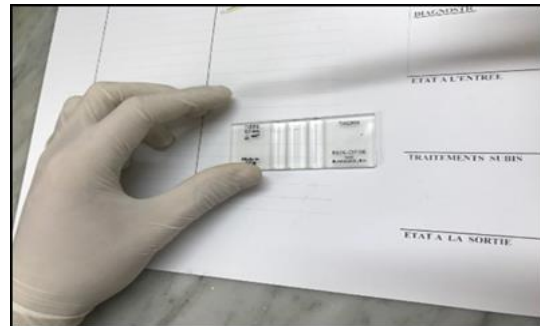
Balance électronique



Microscope optique



Kit de dissection



Lamelles 24 mm x 24mm



Appareil Mini vidas



Microtome

Figure 88 : Matériel de l'étude expérimentale

I.4. Préparation des solutions de BPA à administrer

La poudre de BPA a été dissoute dans un mélange éthanol – eau distillée (1V pour 9V),

L'éthanol, servant de vecteur de dissolution du BPA.

Nous avons pris, comme dose de référence, la dose de **50 µg/kg/j**. Nous avons choisi de tester cette dose ainsi que les doses suivantes :

- 1000 µg/kg/j (20 fois la dose de référence)
- 500 µg/kg/j (10 fois la dose de référence)
- 25 µg/kg/j (moitié de la dose de référence)

Pour ce faire, nous avons préparé des solutions, mère et filles de BPA

Solution mère de BPA à 1 g/L : 100 mg de BPA dissout dans 100 ml d'éthanol.

Solutions filles : correspondant aux doses retenues (tableau 50).

Tableau 50: Solutions de BPA à administrer pour chaque lot

	Préparation des solutions filles de BPA			Animaux
	Solution mère à 1 g/L (µL)	Volume de solution à préparer (mL)	Concentration Solutions filles BPA (µg/mL) 1 mL Administré à chaque souris	Poids moyen des souris (grammes)
Lot 1 Témoin	-	-	(1 mL d'eau éthanolisée)	21,05
Lot 2 25 µg/kg/j	92,8	200	0,464	18,58
Lot 3 50 µg/kg/j	187,7	200	0,9385	18,77
Lot 4 500 µg/kg/j	627	50	12,545	25,09
Lot 5 1000 µg/kg/j	1159	50	23,18	23,18

L'administration (1 mL de la solution fille) a été effectuée, par voie orale, quotidiennement, chez chaque animal, pendant 30 jours.

Afin de standardiser la manipulation des animaux (stress créé par l'administration orale), le groupe témoin a reçu un volume équivalent (1 mL) d'éthanol dilué dans de l'eau distillée.

I.5. Paramètres à étudier

Une série d'observations est programmée :

- Pendant l'étude :
- signes de toxicité, mortalité
 - comportement, pendant l'accouplement et la gestation
 - poids corporel et consommation de nourriture
- Après sacrifice :
- Poids des organes reproducteurs mâles et nombre de spermatozoïdes
 - Examens histologiques des organes de reproduction.
 - Nombre de femelles gravides et de points de résorption.
 - Dosage des hormones du système hypothalamique hypophysaire gonadique (FSH, LH, testostérone).

I.6. Prélèvements

Les souris ont été sacrifiées par luxation cervicale, sous légère anesthésie à l'éther.

- Après dissection de la souris (figure 89), les organes génitaux mâles ont été excisés et pesés.
- Le testicule et l'épididyme de chaque souris, ont été placés et homogénéisés dans une solution de conservation 'Ringer' ; ils ont été réservés pour la numération des spermatozoïdes.



Figure 89 : Dissection de la souris

- Des prélèvements d'organes génitaux mâles ont été effectués dans un médium de type paraffine ou gel de silice, pour l'étude histologique.
- Un prélèvement **sanguin rétrobulbaire** a été effectué en vue du dosage des paramètres hormonaux (figure 90)



Figure 90: Prélèvement rétrobulbaire chez la souris

I.7. Techniques analytiques

I.7.1. Poids des organes reproducteurs

Une mesure pondérale des organes reproducteurs, a été réalisée sur une balance électronique.

I.7.2. Numération des spermatozoïdes

Nous avons incisé le testicule et l'épididyme, pour libérer les spermatozoïdes dans la solution de Ringer. Les solutions ont été conservées, 24 h, à 4°C.

La numération a été effectuée par microscopie optique, sur cellule de Thoma.

Après fixation, sur lamelle de 24 mm x 24 mm, par la solution de Ringer, la numération des spermatozoïdes est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Nombre de spermatozoïdes (mL)} = \text{Nombre de SPZ dans chaque champ} \times \text{Dilution} \times 10^3 \times 4$$

- La cellule de thoma comporte 4 champs.
- La dilution était de 1/10 soit 1 Vol. de solution spermatique et 9 Vol. de solution de Ringer.
- 10^3 représente la conversion du mm^3 en mL

I.7.3. Etude histo-anatomopathologique des coupes d'organes

L'étude des coupes histologiques a été effectuée par microscopie optique et les organes ont été conservés dans du formol à 34.5%, dans des tubes secs, à 4°C.

Préparation des lamelles (figure 91)

- a. Fixation : Les tissus sont fixés dans du formol à 10%, tamponné. Les solutions de formaldéhyde sont les fixateurs les plus répandus.
- b. Déshydratation : Après fixation, les tissus sont déshydratés, à l'étuve à 56°C, dans 4 bains successifs d'acétone. Chaque bain dure 30 minutes.
- c. Clarification : Cette opération s'effectue après la déshydratation ; les pièces sont placées dans 2 bains successifs de xylène. Chaque bain dure 45 minutes.
- d. Inclusion : L'inclusion est effectuée avec de la paraffine (mélange d'hydrocarbures solides à poids moléculaire élevé et de faible affinité). Ces substances sont caractérisées par leur indifférence aux agents chimiques.
- e. Les échantillons sont placés dans deux bains successifs de paraffine, pendant une heure chacun, à une température de 56°C puis coulés dans des moules métalliques. Ensuite, des cassettes en plastique seront fixés, au-dessus et le volume sera complété avec de la

paraffine, puis mis au congélateur, pendant 15 minutes ; ce qui assurera une bonne solidification.

Traitement des lames

- a. Après l'inclusion à la paraffine, les blocs, contenant le fragment, sont coupés à l'aide d'un microtome, à une épaisseur de 7 μm .
- b. Étalement sur lames : Une fois les coupes réalisées, le collage se fait sur une lame de verre recouverte d'une solution d'albumine (2 g d'albumine + 50 ml de glycérine dans 1000 ml d'eau distillée) qui maintient la coupe sur la lame. Les lames sont, ensuite, placées sur une plaque chauffante réglée à une température convenable (40°C), inférieure à celle du point de fusion de la paraffine (56°C). A l'aide d'une pince, les plis de la paraffine sont tirés, légèrement, de chaque côté ; ensuite, l'ensemble coupe - lame est retiré de la plaque, égoutté puis essoré, au papier joseph.
- c. Déparaffinage : Pour déparaffiner les lames, il suffit de les placer dans deux bains successifs de toluène. Chaque bain dure 10 minutes.
- d. Réhydratation : Elle se fait dans 3 bains successifs d'alcool éthylique de degrés décroissants (100°, 95°, 90°, 70°). Chaque bain dure 2 minutes ; le dernier est suivi d'un rinçage à l'eau courante.

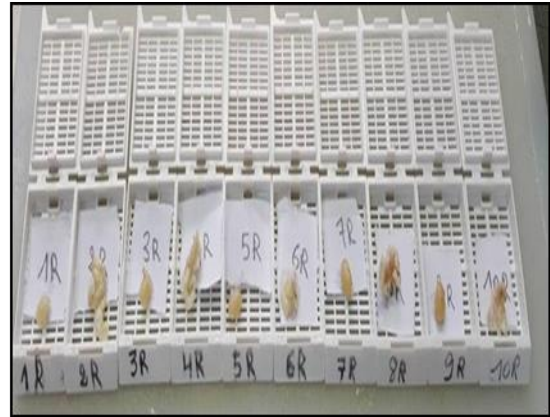
Coloration des lames

Les lames ont été colorées à l'hémalum-éosine qui représente la plus simple des colorations combinées. On a fait agir, successivement, un colorant nucléaire « basique », l'hématéine et un colorant cytoplasmique « acide », l'éosine. La coloration du noyau est bleu- noir et le cytoplasme rose à rouge.

- a. Mettre les lames dans l'hématoxyline de Harris, durant 2 à 3 minutes.
- b. Laver les lames à l'eau ordinaire, pendant 5 minutes.
- c. En cas de sur-coloration, les lames sont trempées, légèrement, dans de l'alcool chlorhydrique, pendant quelques secondes (100 ml d'alcool à 95° + 5 gouttes de HCl à 1%).
- d. Bleuir dans une solution aqueuse saturée de carbonate de lithium (rinçage).
- e. Mettre les lames dans un bain d'alcool éthylique, pendant 1 à 2 minutes.
- f. Colorer les lames à l'éosine alcoolisée (2g d'éosine dans 100 mL d'alcool éthylique), pendant 5 minutes.
- g. Rinçage des lames dans deux bains successifs d'alcool éthylique à 70 ° puis à 95°.
- h. Mettre les lames dans du toluène, pendant 1 minute.
- i. Mettre entre les lames et lamelle une goutte de baume du Canada
- j. Laisser sécher puis observer au microscope optique.



A



B



C



D

A : Fixation au formol à 10% des tissus sur des cassettes

B : Déshydratation des tissus dans un appareil contenant les bacs à bain

C : Découpage des blocs de paraffine par le microtome

D : Préparation des lames pour la lecture

Figure 91 : Etapes de l'étude histo-anatomopathologique des organes reproducteurs mâles

1.7.4. Dosage hormonal

Le prélèvement sanguin a été effectué au niveau du sinus rétro-orbitaire, à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. Le volume prélevé a été centrifugé à 3500 tours/min, pendant 15 min, à 4 ° C. Le sérum récupéré, a été conservé à -4 °C, jusqu'au dosage.

Le dosage a été effectué par la technique immunoenzymatique, à détection finale par fluorescence (ELFA, Enzyme Linked Fluorescent Assay), sur un appareil Mini vidas.

L'échantillon a été prélevé, puis transféré dans le puits contenant le conjugué marqué à la phosphatase alcaline. Il se produit, vis-à-vis des sites de l'anticorps spécifique anti-hormone, fixé sur le cône, une compétition entre l'hormone, présente dans l'échantillon et le dérivé du conjugué. Des étapes de lavage éliminent les composés non fixés.

Lors de l'étape finale de révélation, le substrat est aspiré puis refoulé dans le cône; l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse du substrat en un produit fluorescent ; la fluorescence émise, est mesurée, à 450 nm. La valeur du signal de fluorescence est, inversement, proportionnelle à la concentration de l'antigène (hormone) présent dans l'échantillon.

À la fin du test, les résultats ont été calculés, automatiquement, par l'instrument, par rapport à une courbe de calibration mémorisée.

Remarque : Ne disposant pas d'un volume sanguin suffisant, pour chaque souris, nous avons constitué un pool de sang commun à chaque lot. Ainsi, la valeur de l'hormone dosée, représentera le lot de souris.

1.7.5. Analyse des résultats

Nous avons recherché toute différence entre, d'une part, les **doses de BPA** et, d'autre part, les **variations hormonales, spermatiques, pondérales** (poids corporel, poids des organes reproducteurs mâles) ainsi que les **variations touchant le nombre de femelles gravides ou le nombre de points de résorption**. On a fait appel au test statistique de Mann-Whitney.

Le logiciel ayant servi aux calculs et à l'élaboration des graphes de statistiques est l'IBM® SPSS® STATISTICS (version 25).

CHAPITRE II : RÉSULTATS**II.1. Observations avant sacrifice**

Durant la période d'administration, nous n'avons observé aucune mort, chez les souris, ni relevé d'effets toxiques observables, macroscopiquement.

L'alimentation, en croquettes et en eau, des souris semblait correcte.

Le comportement, lors de l'accouplement nocturne, ne pouvait être apprécié. Cependant, une légère agressivité comportementale a été notée dans les lots exposés au BPA.

Nous avons pesé les souris à J1, J15, J30 (tableau 51 ; figure 92)

Tableau 51 : Poids moyens des souris mâles à J1, J15, J30

Lots		Poids à J1 (g)	Poids à J15 (g)	Poids à J30 (g)	Taux relatif d'accroissement du poids (%)	p value
Lot 1 témoin	N=10	21,05 ±3,17	26 ±1,68	28,29 ±2,15	34,39	-
Lot 2 25 µg/kg/j		18,59±0,84	25±1,23	24,06±1,42	29,42	0,44
Lot 3 50 µg/kg/j		18,77 ±1,80	24 ±1,52	25,69 ±1,93	36,86	0,628
Lot 4 500 µg/kg/j		25,09 ±1,07	27,03 ±1,66	27,82 ±1,53	<u>9,81</u> *	0,005
Lot 5 1000 µg/kg/j		23,18 ±1,41	25,17 ± 2,48	25,79 ±2,33	<u>11,25</u> *	0,022

Le taux relatif d'accroissement du poids est calculé par la formule suivante :

$$[(\text{Poids J30} - \text{Poids J1}) / \text{Poids J1} \times 100]$$

NB : dans tous les tableaux de cette partie, les résultats seront exprimés en moyenne ± écart type, N représentant le nombre de souris, dans chaque groupe.

Les astérisques indiquent une différence, statistiquement, significative entre les groupes traités au BPA et le groupe témoin. (* p < 0,05)

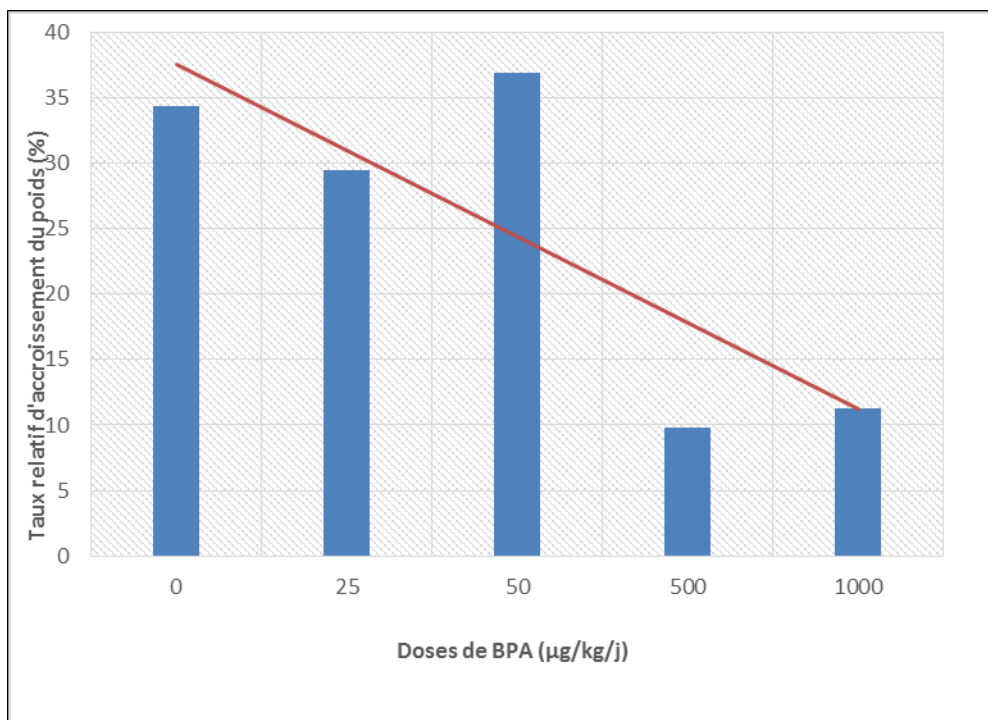


Figure 92: Taux relatifs d'accroissement du poids moyen des cinq lots de souris, à J30.

Nous observons une diminution du taux relatif d'accroissement du poids des souris du lot 2 (29,42 %), 4 (9,81 %) et 5 (11,25 %), cette baisse est significative pour les lots 4 et 5.

II.2. Poids des organes reproducteurs mâles

Après sacrifice des animaux, nous avons procédé à la pesée des organes mâles reproducteurs à savoir : les testicules, l'épididyme, les vésicules séminales, la prostate ventrale (tableau 52).

La souris possède 3 prostates (ventrale, dorsale, glandes coagulantes) ; nous avons choisi de peser la principale prostate, la prostate ventrale. Nous rapportons le poids des paires de testicules et vésicules séminales (Figure 93, 94 et 95).

Tableau 52 : Poids moyen (PM) et poids relatif (PR) du testicule, de l'épididyme, des vésicules séminales et de la prostate ventrale.

Lot	Poids corporel à J30 (mg)	PM testicules (mg)	PR testicules (%)	PM épидидyme (mg)	PR épидидyme (%)	PM vésicules séminales (mg)	PR vésicules séminales (%)	PM prostate ventrale (mg)	PR prostate ventrale (%)
Lot 1 témoin	28,29 ±2,15	0,097 ±0,0067	0,342	0,064 ±0,0065	0,226	0,124 ±0,0215	0,438	0,028 ±0,0093	0,098
Lot 2 25 µg/kg/j	24,06 ±1,42	0,082 ±0,0075	0,340	0,055 ±0,015	0,228	0,159 ±0,031	0,660*	0,023 ±0,0075	0,095
Lot 3 50 µg/kg/j	25,69 ±1,93	0,082 ±0,0027	0,319	0,034 ±0,0035	0,132*	0,127 ±0,0389	0,494*	0,027 ±0,0066	0,105
Lot 4 500 µg/kg/j	27,82 ±1,53	0,091 ±0,0046	0,327	0,032 ±0,0056	0,115*	0,144 ±0,0305	0,517*	0,054 ±0,0094	0,194*
Lot 5 1000 µg/kg/j	25,79 ±2,33	0,090 ±0,0053	0,348	0,039 ±0,0056	0,151*	0,1548 ±0,0374	0,600*	0,047 ±0,0093	0,182*

- PM : poids moyen des organes reproducteurs, dans chaque lot (mg)
- PR : poids relatif = (PM / PC) x 100
- PC : poids corporel moyen du lot (mg)

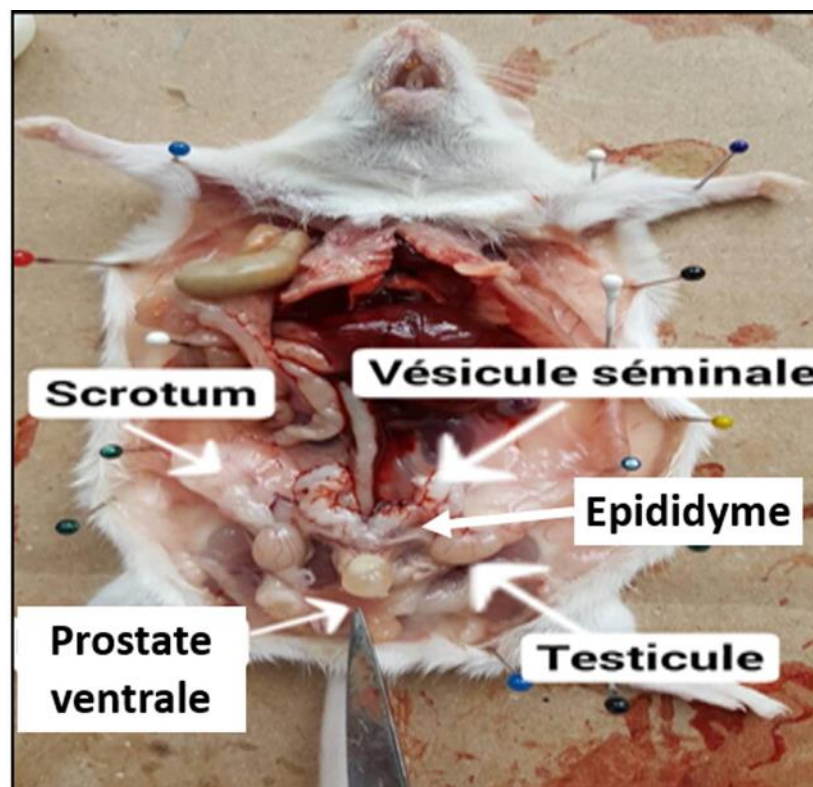
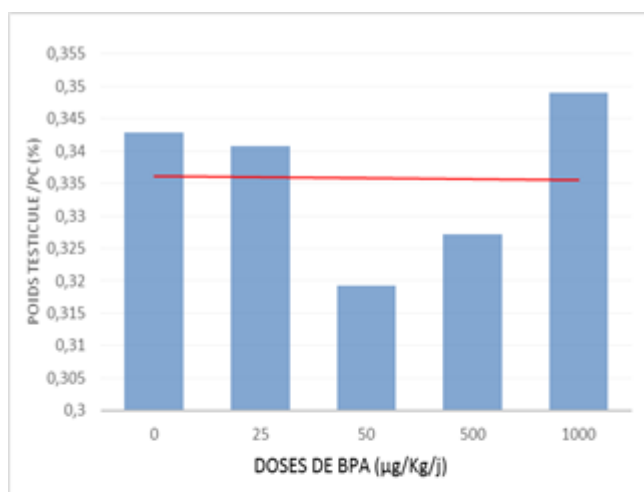
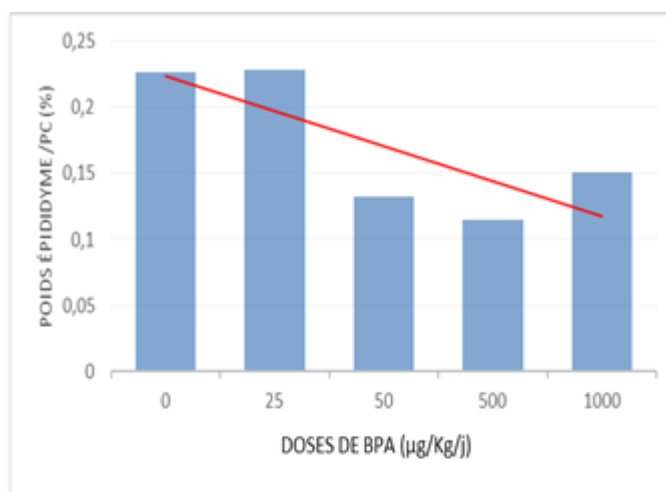


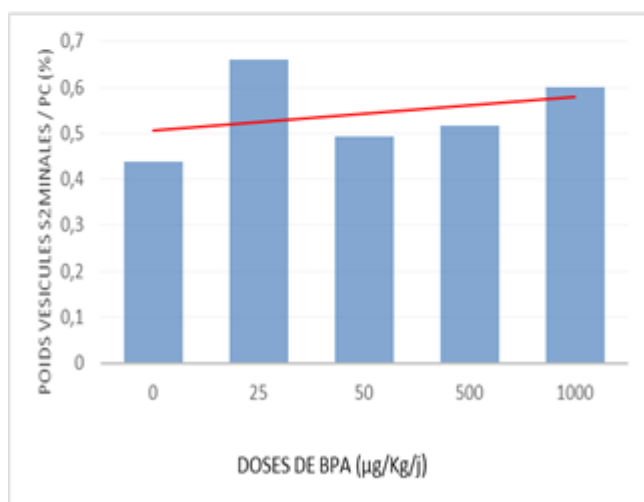
Figure 93 : Anatomie de l'appareil reproducteur d'une souris mâle disséquée



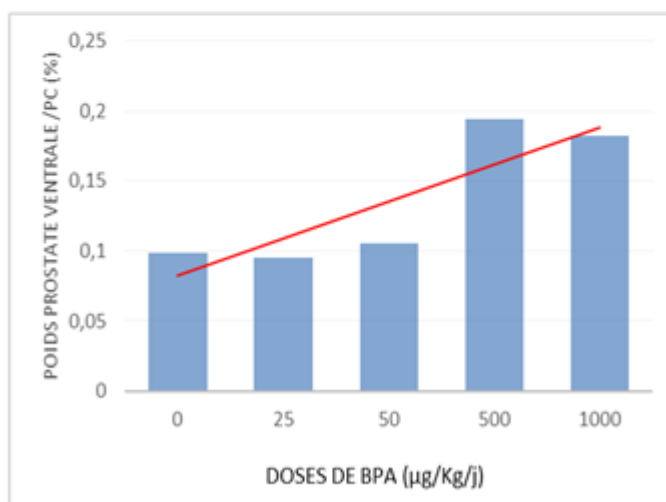
1



2



3



4

1 : Poids relatif des testicules (%) / doses de BPA (µg/Kg/j)

2 : Poids relatif de l'épididyme (%) / doses de BPA (µg/Kg/j)

3 : Poids relatif des vésicules séminales (%) / doses de BPA (µg/Kg/j)

4 : Poids relatif de la prostate ventrale (%) / doses de BPA (µg/Kg/j)

Figure 94 : Poids relatifs des organes reproducteurs mâles. Lot témoin et lots de souris exposées.

Nous observons, aux doses de 50 et 500 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{j}$, une diminution, non significative, du poids relatif des testicules, par rapport à celui du lot témoin.

La diminution du poids relatif de l'épididyme est significative pour les lots exposés à 50, 500 et 1000 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{j}$

Une augmentation significative du poids relatif des vésicules, est notée pour l'ensemble des quatre lots exposés

Une augmentation significative du poids relatif de la prostate ventrale, est notée pour les lots exposés 4 (500 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{j}$) et 5 (1000 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{j}$).

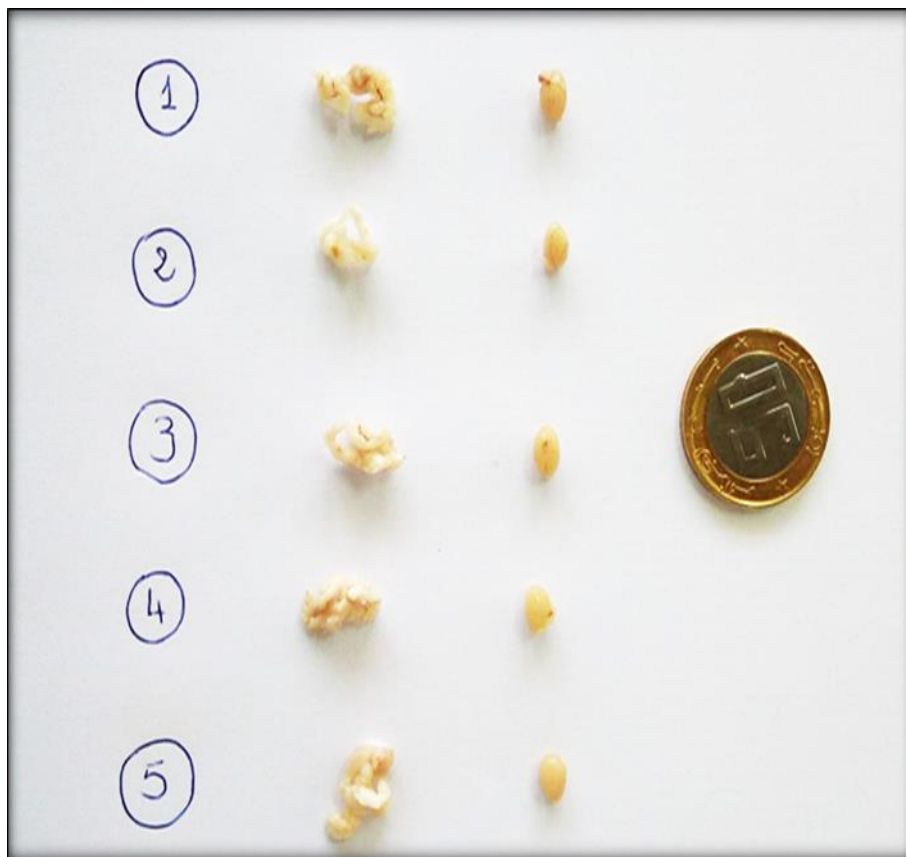


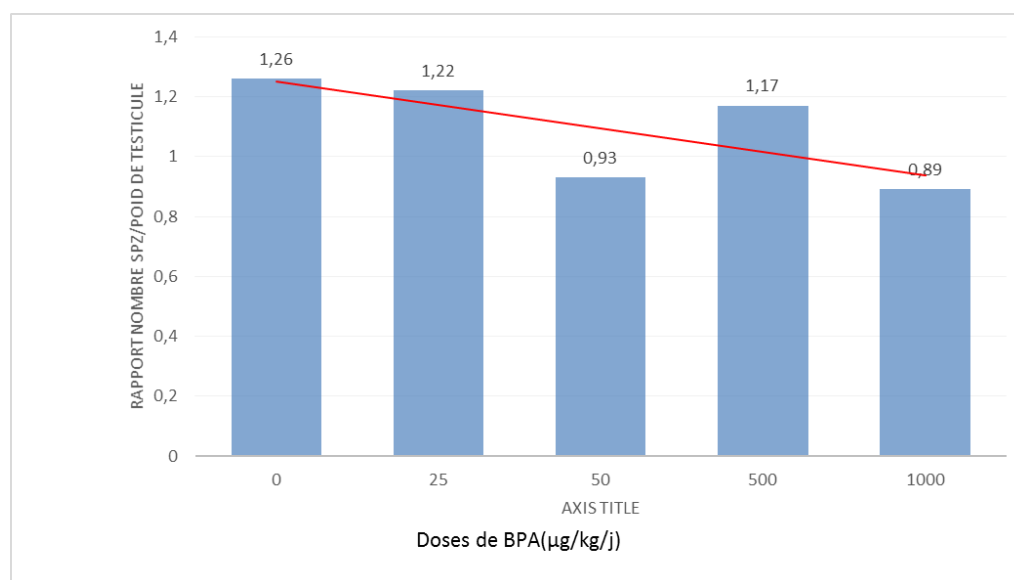
Figure 95: Taille des testicules et des vésicules séminales, chez une souris par lot

II.3. Numération des spermatozoïdes (tableau 53, figure 96)

La figure 97 montre un schéma démonstratif du champ microscopique de la cellule de Thoma, avec les spermatozoïdes (SPZ).

Tableau 53 : Numération moyenne des spermatozoïdes. Cinq lots de souris.

		Nombre de SPZ (Million / mL)	Rapport Nombre de SPZ / poids de testicule (million / mg de poids)
Lot 1 témoin		1,26 ±0,28	12,98
Lot 2 (25µg/kg/j)		1,22 ±0,45	14,87
Lot 3 (50µg/kg/j)	N=10	0,93 ± 0,15	11,34
Lot 4 (500µg/kg/j)		1,17 ±0,38	12,85
Lot 5 (1000µg/kg/j)		0, 89 ±0,34	9,88

**Figure 96**: Numération spermatique. Lot témoin et lots de souris exposées au BPA.

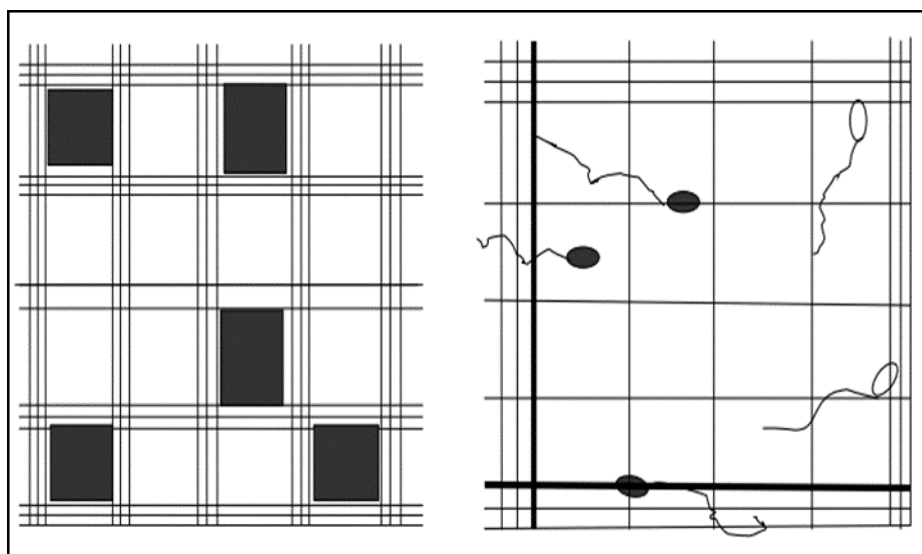


Figure 97 : Schéma démonstratif du comptage des SPZ à l'aide d'une cellule de Thoma [288].

Il n'y a pas de variation significative dans la numération des spermatozoïdes, chez les souris exposées (par rapport aux témoins).

II.4. Impact sur la fertilité (nombre de femelles gravides et points d'implantation)

(Tableau 54, figures 98 -103)

Nous avons relevé, dans chaque lot, le nombre de femelles gravides ; nous avons rapporté ce nombre à celui du total des femelles ; ce rapport est exprimé en pourcentage.

Tableau 54 : Nombre de femelles gravides (%) et de points d'implantation.

	Nombre de femelles gravides (%)	Nombre de points d'implantations
Lot 1 témoin	90	55
Lot 2 (25 µg/kg)	90	67
Lot 3 (50 µg/kg)	100	88
	N=10	
Lot 4 (500 µg/kg)	<u>40*</u>	<u>13*</u>
Lot 5 (1000 µg/kg)	<u>30*</u>	<u>7*</u>

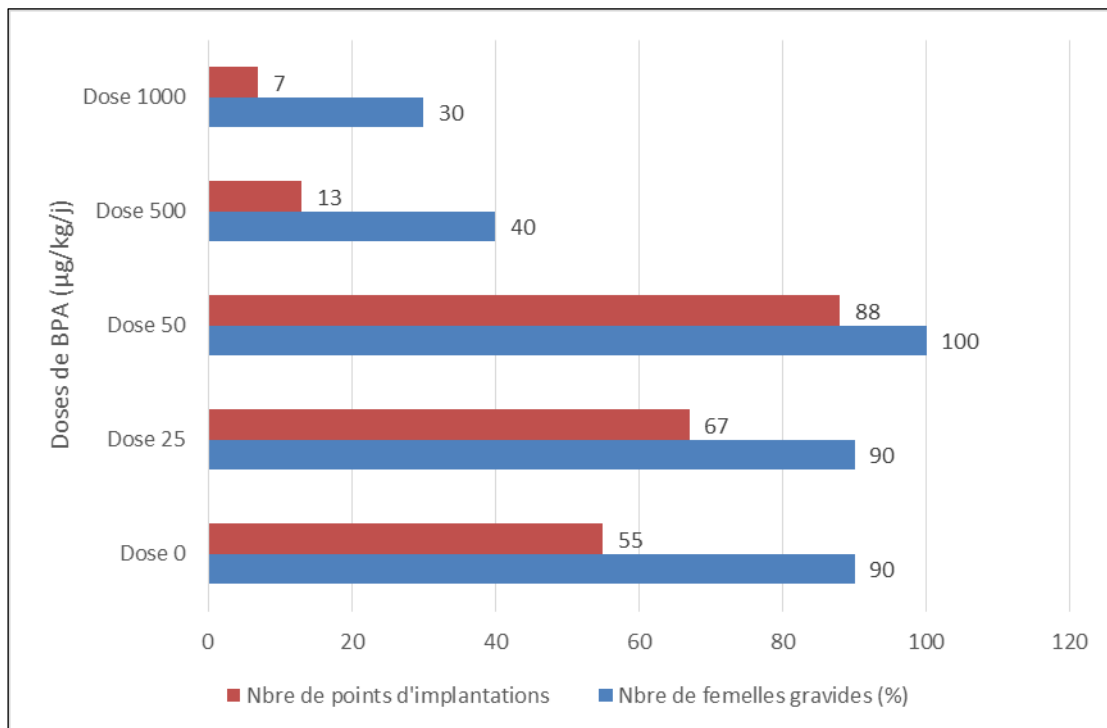


Figure 98 : Nombre de femelles gravides et de points d'implantation.
Lot témoin et lots de souris exposées au BPA.

Nous observons une diminution significative du nombre de femelles gravides et du nombre de points d'implantations, aux doses de 500 et 1000 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{j}$.



Figure 99 : Femelles disséquées. Lot 1 témoin



Figure 100 : Femelles disséquées. Lot 2, exposé à 25 µg/kg/j



Figure 101 : Femelles disséquées. Lot 3, exposé à 50 µg/kg/j



Figure 102 : Femelles disséquées. Lot 4, exposé à 500µg/kg/j

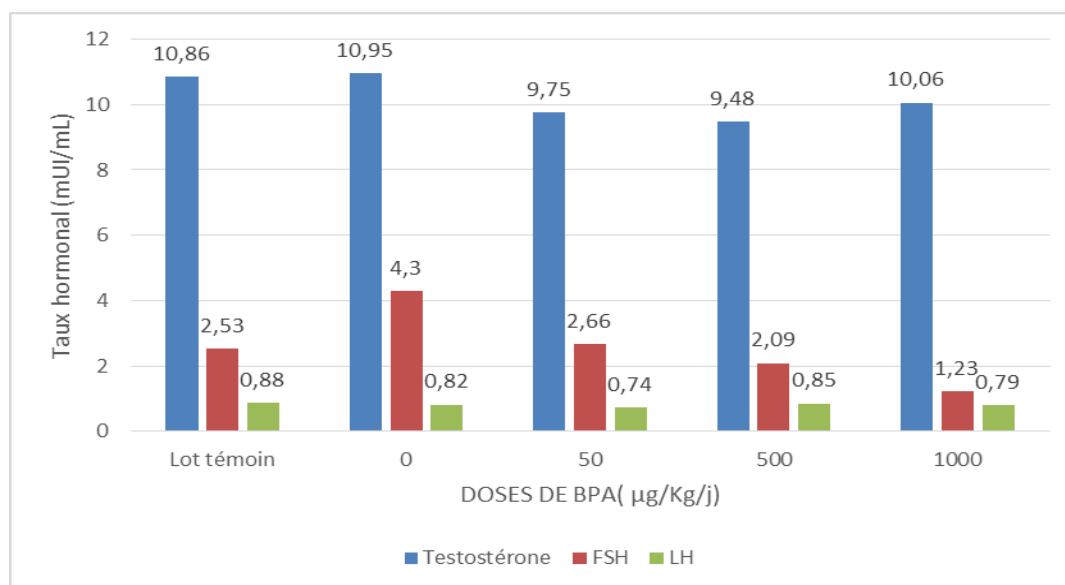


Figure 103 : Femelles disséquées. Lot 5, exposé à 1000 µg/kg/j

II.5. Dosage hormonal (testostérone, FSH, LH) (tableau 55, figure 104)**Tableau 55** : Taux moyens de testostérone, de LH, et de FSH. Lots de souris témoins et exposées

	Taux Testostérone (mUI/mL)	Taux FSH (mUI/mL)	Taux LH (mUI/mL)
Lot témoin	10,86	2,53	0,88
Lot 2 (25 µg/kg/j)	10,95	4,3	0,82
Lot 3 (50 µg/kg/j)	9,75	2,66	<u>0,74*</u>
Lot 4 (500 µg/kg/j)	9,48	2,09	0,85
Lot 5 (1000 µg/kg/j)	10,06	1,23	0,79

N=10

**Figure 104** : Taux de testostérone, de FSH et de LH. Lot témoin et lots de souris exposées au BPA

Il n'y a pas de différence significative entre les taux de testostérone, chez les souris témoins et celles, non exposées. Aucune baisse significative n'est notée, pour le taux de FSH. Nous notons, par ailleurs, une baisse significative du taux de LH, à la dose de 50 µg/kg/j (lot 3).

II.6. Étude histologique des organes reproducteurs mâles

II.6.1. Étude histologique des testicules

Les observations ont été effectuées au microscope optique, au grossissement x10 puis x40 (tableau 56).

La figure 105 représente une coupe transversale d'un tube séminifère et d'un testicule ; la figure 106 rapporte la micrographie des coupes histologiques, au niveau du testicule (coloration à l'hémalum-éosine G).

Tableau 56 : Observations histologiques des testicules.

Lots	Observations
Témoin1	-Richesse du nombre des tubes séminifères avec une forme arrondie et distincte. -Homogénéité de la maturation des SPZ, sur l'ensemble des tubes séminifères.
Lot 2 (25 µg/kg/j)	-Forte ressemblance avec les tubes séminifères du témoin (conservation de la forme arrondie des tubes séminifères et de la maturation des SPZ)
Lot 3 (50 µg/kg/j)	-Légère dystrophie des tubes séminifères avec une forme plus <u>allongée</u> et <u>étirée</u> -Maturation intacte des SPZ
Lot 4 (500 µg/kg/j)	-Dystrophie des tubes séminifères ; rupture et discontinuité de la membrane basale -Conservation de la spermatogénèse -Hétérogénéité de la maturation des SPZ
Lot 5 (1000 µg/kg/j)	-Raréfaction des tubes séminifères avec amincissement de l'interstitiel et <u>abondance de l'espace interstitiel</u> -Persistance de quelques cellules spermatogonies

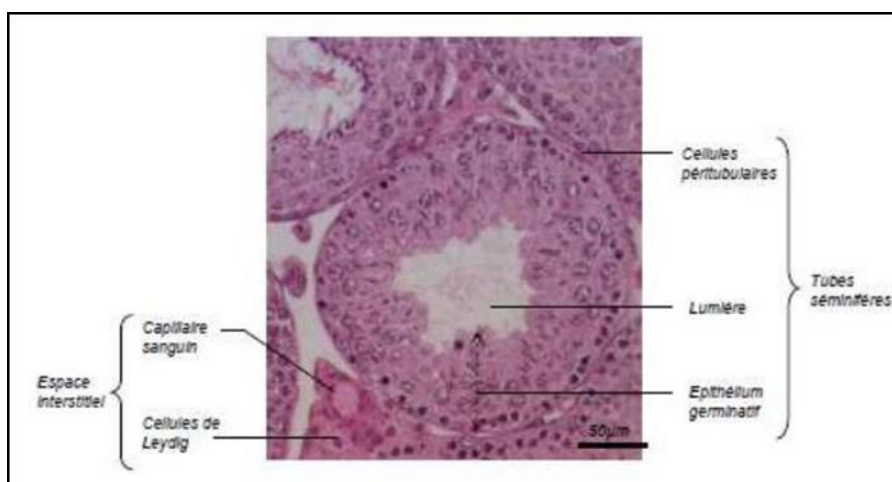
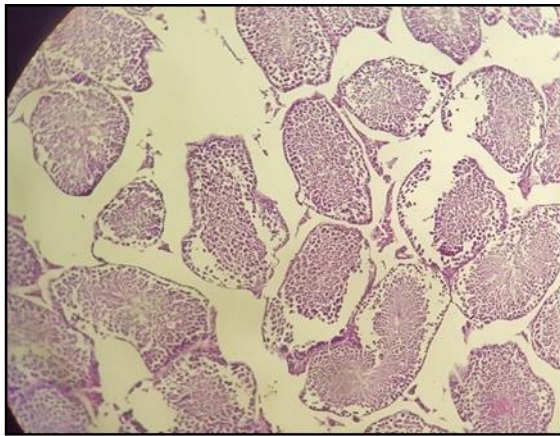
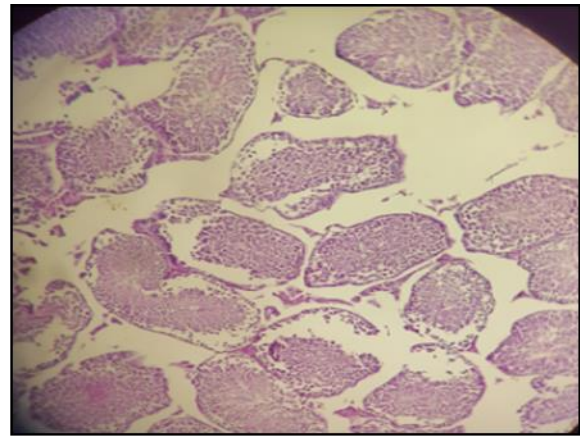


Figure 105 : Coupe transversale d'un tube séminifère de testicule de souris adulte (10x20) [289].



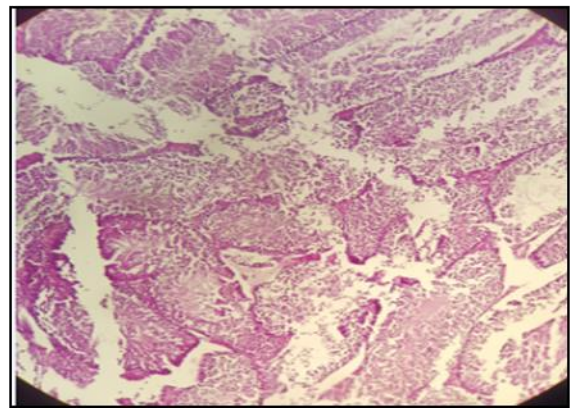
Lot 1



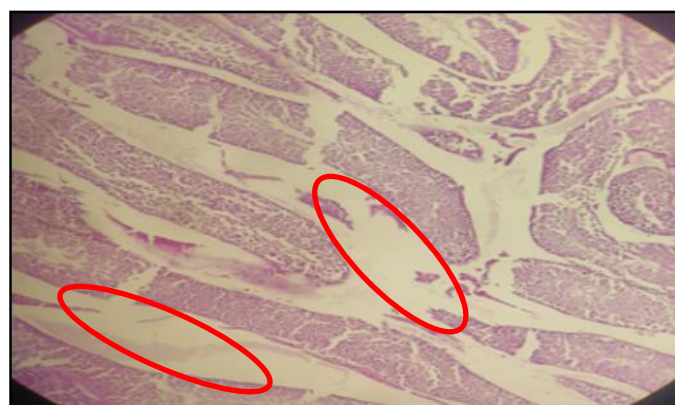
Lot 2



Lot 3



Lot 4



Lot 5

Figure 106 : Micrographie de coupe histologique au niveau du testicule.
Coloration à l'hémalun-éosine G (10x10). Lot témoin et lots de souris exposées.

II.6.2. Étude histologique des vésicules séminales

(Tableau 57 : observations au microscope optique, au grossissement x10 puis x40).

La figure 107 représente une coupe transversale d'une vésicule séminale ; la figure 108 rapporte la micrographie des coupes histologiques, au niveau de la vésicule séminale (coloration à l'hémalun-éosine G).

Tableau 57 : Observations histologiques des vésicules séminales

Lots	Observations
Témoin1	-Présence homogène de l'épithélium glandulaire et du liquide sécrétoire
Lot 2 (25 µg/kg/j)	-Forte ressemblance au lot témoin avec conservation de l'épithélium glandulaire et du produit sécrétoire.
Lot 3 (50 µg/kg/j)	-Légère hyperplasie de l'épithélium glandulaire -Diminution du liquide sécrétoire
Lot 4 (500 µg/kg/j)	-Hyperplasie de l'épithélium glandulaire -Basophilie de cytoplasme des cellules principales -Raréfaction du liquide sécrétoire
Lot 5 (1000 µg/kg/j)	-Apparition de foyers de nécrose de coagulation de l'épithélium glandulaire -Amincissement et éclatement de la paroi pariétale et libération accrue de liquide sécrétoire

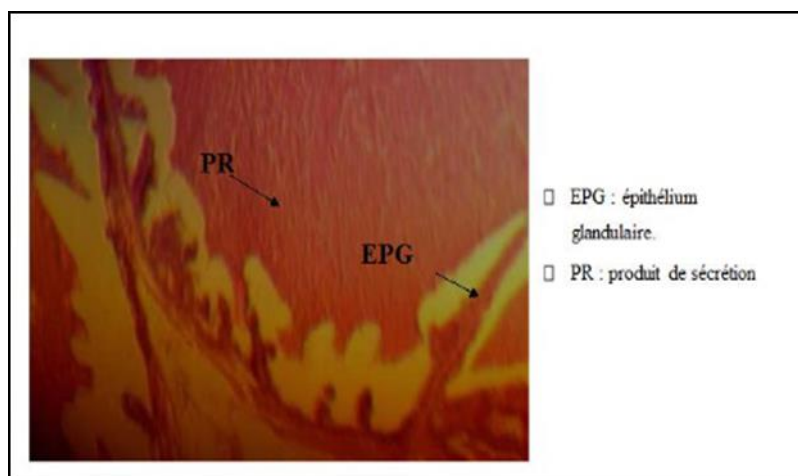
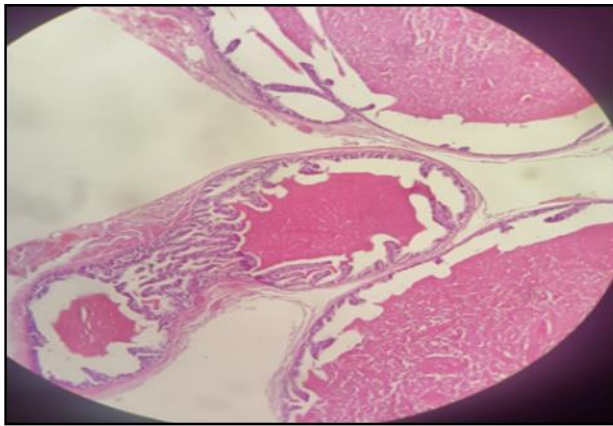
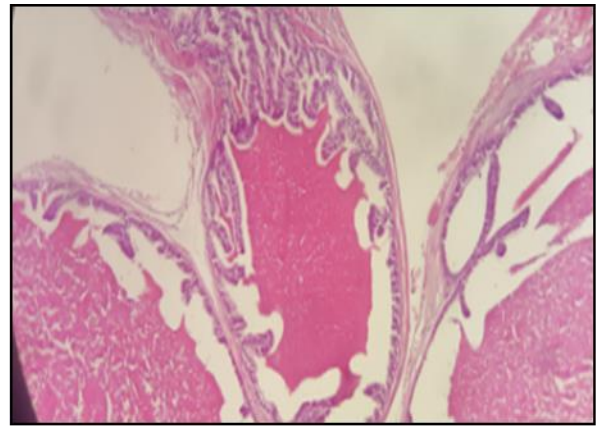


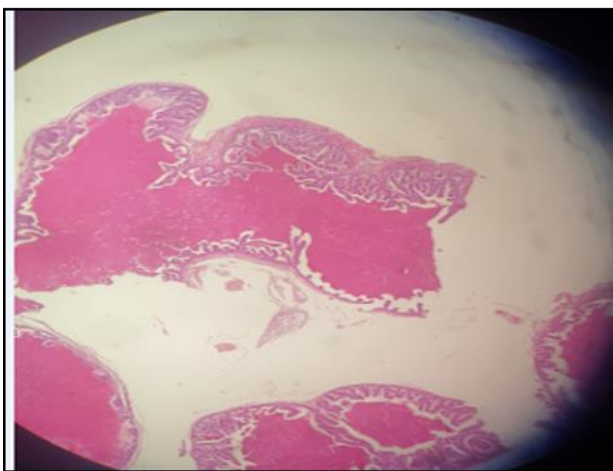
Figure 107 : Coupe transversale d'une vésicule séminale de souris adulte (10x40) [289].



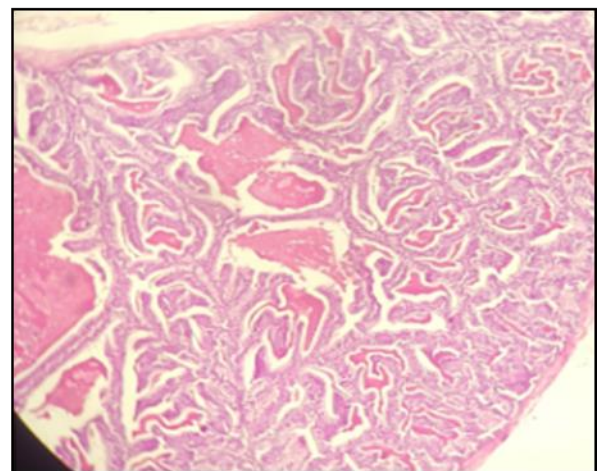
Lot 1



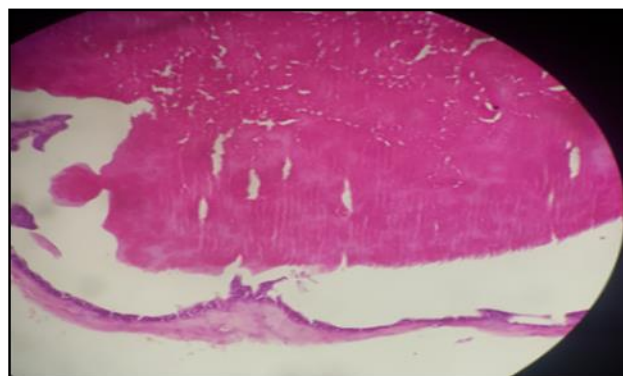
Lot 2



Lot 3



Lot 4



Lot 5

Figure 108 : Micrographie de coupe histologique au niveau des vésicules séminales.

Coloration à l'hémalun-éosine G (10x10). Lot de souris témoins et exposées

CHAPITRE III : DISCUSSION

Le bisphénol A est ubiquitaire et persiste dans l'environnement, car son relargage dans l'atmosphère est constant, provenant de sa manufacture, mais, également, de tous les objets et produits du quotidien qui le renferment. Ainsi, la population générale, dans sa totalité, est exposée à ce composé soit par ingestion, inhalation ou pénétration cutanée. Ainsi, les effets, à long terme et la synergie avec les xéno-œstrogènes, peuvent être considérés comme un risque potentiel pour la santé humaine.

Du fait de ses propriétés œstrogéno-mimétiques, le BPA est suspecté d'exercer des effets délétères sur la santé des populations et, notamment, sur la fonction de reproduction. De nombreuses études expérimentales ont été réalisées, pour vérifier si le BPA est capable de perturber l'activité de reproduction, de façon générale et la reproduction masculine, de façon plus spécifique.

Les études expérimentales, menées sur plusieurs générations d'animaux, présentent des résultats variables avec, pour certaines, des effets sur le développement de l'appareil génital mâle, observés, à des doses de l'ordre de 1 µg/kg. Des études récentes précisent que les mécanismes impliqués sont plus nombreux et complexes qu'attendus. Ainsi, des récepteurs androgéniques et thyroïdiens seraient, également, des cibles du BPA, en plus des récepteurs œstrogéniques. Le BPA pourrait, aussi, jouer un rôle de modulateur des différentes voies métaboliques de l'organisme. De tels effets, si particuliers, peuvent, donc, ne pas être observés par les tests classiques, habituellement, réalisés [373].

De nombreux articles de synthèse rapportent les différents effets observés et ce, pour des concentrations faibles en BPA (dès 20 µg/kg/j, chez le rat et 2 µg/kg/j, chez la souris). Une large variété d'effets est rapportée chez les rongeurs, pour des concentrations en BPA très faibles, à des niveaux comparables à ceux rencontrés chez l'homme (adulte, enfant, fœtus) [374].

Les résultats de notre étude démontrent, clairement, que l'ingestion de BPA, pendant 30 jours, chez des souris, induit des effets néfastes sur la fertilité et la reproduction des mâles. Plusieurs paramètres de reproduction ont été, négativement, affectés.

III.1. Poids corporel

Nous avons noté, au 30^{ème} jour, une diminution dans l'évolution du poids des souris exposées aux doses de 25, 500 et 1000 µg/kg/j ; à ces deux dernières doses, la diminution est significative ($p=0,005$ et $0,02$; respectivement). Les souris exposées gagnent moins de poids que les témoins.

Kazemi *et al.* rapportent, aux doses de 5, 25 et 125 µg/kg/j de BPA, une perte de poids significative, chez des rats adultes [375]. Le même constat est fait par Takahashi *et al.* [376] et Yousaf *et al.* [377].

À l'inverse, Salian *et al.* ont observé un gain de poids, chez des rats Holtzman, traités, par voie orale, aux doses de 1,2 - 2,4 µg/kg/j [378].

Vom Saal *et al.* ont réalisé une revue relative aux effets du BPA, principalement, lors d'expositions périnatales (gestation et lactation), sur la fonction adipocytaire et les conséquences en terme d'obésité, chez l'animal adulte. Le BPA serait responsable d'une baisse de tolérance au glucose et d'une augmentation de l'insulinorésistance, notamment, au niveau adipocytaire (augmentation de la différenciation adipocytaire et de la lipogenèse). De même que le BPA pourrait avoir un effet sur le pancréas et provoquer une augmentation de la sécrétion d'insuline.

Les auteurs indiquent que les niveaux de BPA, actifs chez l'animal, sont compatibles avec les taux retrouvés chez l'Homme et précisent qu'il serait important d'évaluer l'impact des expositions précoces chez l'Homme adulte [369].

III.2. Poids des organes reproducteurs

III.2.1. Poids des testicules

Dans notre expérimentation, l'exposition des souris mâles au BPA, aux doses de **50 et 500** µg/kg/j a induit une diminution, relative, du poids des testicules (rapporté au poids corporel, avant sacrifice) ; ces résultats sont soutenus par plusieurs études [379–382].

Kabuto *et al.* ont observé une diminution du poids testiculaire, chez des souris Imprinting Control Region (ICR), auxquelles a été administré, par voie orale, du BPA, à la dose de 10 µg/kg/j, une semaine avant l'accouplement [383]. Yousaf *et al.* rapportent un résultat analogue, chez des rats soumis, pendant 15 jours, à une dose plus élevée (100 mg/kg/j soit 20 fois la valeur NOAEL) [377]. Al-Hiyasat *et al.* relèvent une diminution significative du taux absolu des testicules, après administration intra gastrique de 5µg/kg/j, chez des souris Swiss mâles [384].

A l'inverse, Okada et Kai ne rapportent pas d'effet sur le poids des organes reproducteurs, y compris le testicule, lors d'un traitement sous-cutané ; ils observent, cependant, une diminution dans la proportion des tubes séminifères ayant des spermatides matures, chez les souris exposées à 60 µg/kg/j de BPA. Des observations histologiques similaires ont été retrouvées dans notre étude, où nous avons noté une dystrophie des tubes séminifères avec conservation de la spermatogénèse [385].

III.2.2. Poids de l'épididyme

Nous avons, également, noté une diminution significative du poids relatif de l'épididyme, chez les souris exposées aux doses de 50,500 et 1000 µg/kg/j. L'étude de Chitra *et al.*, menée, sur des rats, aux doses de 0,2, 2 et 20 µg/kg/j (doses beaucoup plus faibles que les nôtres), rapporte une diminution du poids des testicules et de l'épididyme [271].

Des souris CF-1 mâles, exposées, *in utero* au BPA (mère en gestation, soumise à 2 µg/kg/j de BPA), ont montré une diminution du poids du tractus uro-génital, à savoir l'épididyme et les vésicules séminales [386].

III.2.3. Poids des vésicules séminales et de la prostate

Nous avons observé, dans notre étude, une augmentation du poids relatif des vésicules séminales, chez l'ensemble des souris des quatre lots, de même qu'une augmentation significative du poids de la prostate ventrale, aux fortes doses (500 et 1000 µg/kg/j).

Kim *et al.*, à des doses de 50, 100, 250 et 500 mg/kg ne relèvent pas de variation dans la taille des vésicules séminales et de la prostate de rats castrés [387]. Tandis qu'Al-Hiyasat *et al.* relèvent une diminution significative du poids absolu des vésicules séminales, après administration intra gastrique de 25 µg/kg/j, chez des souris Swiss mâles [384].

Il se pourrait que l'augmentation du poids de la vésicule séminale, soit attribuée aux modifications histologiques, à savoir l'apparition de foyers de nécrose de coagulation de l'épithélium glandulaire, l'amincissement et l'éclatement de la paroi pariétale et la libération accrue de liquide sécrétoire.

Chitra *et al.* ont obtenu une importante augmentation du poids de la prostate ventrale, à des doses orales plus basses (0,2, 2 et 20 µg/kg/j, pendant 45 jours), chez le rat Wistar [271]

L'augmentation du poids de la prostate est relevée par Nagel *et al.* qui ont exposé, par voie orale, des souris adultes Carworth Farms 1 (CF1), à des doses de 2 et 20 µg/kg. Le poids de la prostate s'est accru de 30 %, à la plus faible dose et de 35 % à 20 µg/kg [146].

Timms *et al.* ont observé, à la naissance de souris mâles, une prolifération de l'épithélium des canaux primitifs de la glande prostatique [388].

A l'inverse, l'étude de Takahashi *et al.* indique une diminution significative du poids de la prostate, aux doses de 466 et 950 mg/kg/j. L'exposition intra gastrique et intra péritonéale concernaient des rats mâles adultes, pendant 44 jours [376],

Ramos *et al.* n'ont noté aucun impact significatif sur les paramètres fonctionnels de la prostate [389], de même que Tyl *et al.* qui n'ont pas relevé de variation du poids de la prostate (souris), après administration orale de 0,003, 0,03, 0,3, 5, 50 et 600 mg/kg/j (10 semaines avant l'accouplement) [390].

III.3. Effet du BPA sur la fertilité (Nombre de femelles gravides, points d'implantation et numération spermatique)

III.3.1. Nombre de femelles gravides et points d'implantation

Le nombre de femelles gravides imprégnées, par les mâles exposés, aux doses de 25 et 50 µg/kg/j, n'est pas différent de celui des témoins. Aux doses plus fortes (500 et 1000 µg/kg/j), on note une réduction significative du nombre de femelles gravides. Al-Hiyasat *et al.* rapportent une diminution significative du nombre de femelles gravides, à des doses plus basses de 25 et 100 µg/kg/j de BPA administrées aux mâles [384].

Le nombre de points d'implantation a, également, diminué, aux mêmes fortes doses de 500 et 1000 µg/kg/j de BPA, quand Al-Hiyasat *et al.* ne relèvent pas de différence significative quant au nombre de sites d'implantation et de fœtus viables [384].

En toute probabilité, des changements dans la mobilité ou la viabilité des spermatozoïdes pourraient être à l'origine de ces résultats, attendu que la production spermatique, n'avait pas, significativement, diminué. Il reste à vérifier ces assertions par de nouvelles expérimentations.

III.3.2. Numération spermatique

Dans notre étude, la numération des spermatozoïdes, rapportée au poids du testicule, a, légèrement, régressé dans le lot 3 (50 µg/kg/j) ; la régression, étant plus nette, à la dose de 1000 µg/kg/j par rapport aux témoins. Cependant, cette régression n'était pas, statistiquement, significative.

Cette régression peut être attribuée au fait que le BPA peut pénétrer toutes les barrières et, ainsi, affecter, directement, les cellules de Sertoli, entraînant une perturbation dans le développement de la spermatogénèse [271] ; il peut, également, s'agir d'une dystrophie des tubes séminifères, observée lors des études histologiques de notre expérience.

Saal *et al.* rapportent, également, une diminution dans la production du sperme, chez les souris soumises au BPA [386] ; Quant à Al-Hiyasat *et al.*, ils relèvent une nette diminution, aux doses de 5, 25, et 100 µg/kg/j de BPA [384].

Chitra *et al.* ont rapporté une diminution de la mobilité et du nombre de spermatozoïdes, aux doses de 0,2, 2 et 20 µg/kg/j, pendant 45 jours. Les activités des enzymes antioxydantes (superoxyde dismutase, catalase, glutathion réductase et glutathion peroxydase) étaient diminuées, chez les animaux d'expérience, tandis que les niveaux de peroxyde d'hydrogène étaient augmentés ainsi que la peroxydation des lipides [271].

Ces résultats suggèrent qu'une exposition sub-chronique au BPA pourrait provoquer un épuisement des défenses antioxydantes, qui peut aboutir à un stress oxydant des spermatozoïdes [271]. Rappelons que dans cette étude, la durée d'administration a été étalée sur 45 jours alors que la nôtre ne portait que sur 30 jours ; ce qui pourrait expliquer les différences entre les deux études.

Ashby *et al.* ne relèvent pas de modification significative dans la production spermatique, chez des rats adultes Sprague-Dawley, soumis, dans des études distinctes, aux doses de 20, 2000 et 200 000 µg/kg [391].

Globalement, la diminution de la fertilité masculine pourrait s'expliquer par le fait que le BPA peut agir, sur les cellules testiculaires de Leydig et de Sertoli, entraînant une diminution de la production de testostérone. Agissant, directement, sur le cerveau, l'hypothalamus ou la glande pituitaire antérieure, il peut affecter, indirectement, les testicules et, probablement, l'activité sexuelle. Il a, récemment, été démontré que le BPA inhibe la Ca^{2+} - ATPase testiculaire.

III.4. Taux hormonaux

III.4.1. Testostérone

L'exposition au BPA entraîne, chez les souris de notre étude, une légère baisse des taux de testostérone, aux doses de 50, 500 et 1000 µg/kg/j, sans significativité.

Il n'est pas relevé de variation significative dans les taux de testostérone, dans plusieurs études, à l'exemple de celle de Takahashi *et al.* (rats mâles adultes, soumis, per os, à de fortes doses de 235, 466 et 950 mg/kg, pendant 44 jours) [376] ; ou de celle de Kato *et al.* (rats mâles exposés au BPA, pendant 9 jours, par voie intrapéritonéale, à de faibles doses de 24 µg/kg, 120 µg/kg, 600 µg/kg) [33].

D'autres études ont rapporté une baisse significative de la testostéronémie, chez les animaux d'expérience :

- à de très faibles doses de BPA (2 µg/kg/j), suite à une exposition gestationnelle des souris, par voie intrapéritonéale [392],
- à des doses, plus élevées (4000 µg/kg/j), suite à un gavage, pendant 12 semaines [393],
- à des doses, encore, plus élevées (50 mg/kg), suite à un gavage, pendant 52 jours [394]

Cette baisse significative de la testostéronémie pourrait être liée à la longue durée d'exposition.

La baisse de production de testostérone est expliquée par Chouhan *et al.* par le fait que le BPA induit un stress oxydant, au niveau du testicule, avec production d'espèces radicalaires (radicaux libres, peroxydation lipidique), ce qui entraîne une augmentation des niveaux d'oxyde nitrique responsable de dommages tissulaires, affectant la survie des cellules testiculaires. L'augmentation d'oxyde nitrique, dans sa forme active, a un effet indirect sur la réduction des taux de cholestérol, nécessaire à la synthèse de toute hormone stéroïde [395].

III.4.2. FSH et LH

Dans notre étude, l'exposition au BPA entraîne, chez les souris, une légère baisse des taux de FSH, aux doses de 500 et 1000 µg/kg/j.

En ce qui concerne le taux de LH, une légère baisse a été notée, aux quatre doses de BPA (25, 50, 500 et 1000 µg/Kg/j ; seule la baisse du lot, à 25 µg/Kg/j est significative, comme rapporté dans l'étude de Yousaf *et al.* [377].

III.5. Étude histologique des organes reproducteurs mâles

Nous avons observé que l'exposition des souris mâles adultes, aux doses de 50, 500 et 1000 µg/Kg/j de BPA, a entraîné des changements au niveau des tissus des organes génitaux ; plus la dose administrée est élevée et plus le changement est flagrant.

III.5.1. Testicules

A 50 µg/Kg/j, nous avons noté un début de dystrophie des tubes séminifères ; cette altération s'étant accrue à partir de 500 µg/Kg/j, pour atteindre une raréfaction, à la plus forte dose (1000 µg/Kg/j).

Ces résultats sont comparables à ceux de l'étude d'Okada et Kai qui rapportent une raréfaction des tubes séminifères porteurs de spermatozoïdes matures, chez des souris exposées à 60 µg/kg/j de BPA [385].

Ces changements histo-morphologiques étaient, également, présents dans l'étude de Yu-hua Li *et al.*, réalisée sur des souris mâles âgées de 21 jours et exposées, par voie intrapéritonéale, à 50 mg/kg/j de BPA, pendant 7 jours. Un nombre élevé de tubules séminifères présentaient des cellules spermatogènes détachées de la membrane basale ; était notée, également, une desquamation des cellules germinales avec blocage de la lumière [396].

III.5.2. Vésicules séminales

Nous avons observé, chez les souris traitées, des modifications histologiques, à partir de la dose de 50 µg/Kg/j ; aux plus fortes doses de BPA (500 et 1000 µg/Kg/j), nous avons constaté une hyperplasie de l'épithélium glandulaire, une raréfaction du liquide sécrétoire ainsi qu'une apparition de foyers de nécrose de coagulation de l'épithélium glandulaire avec un amincissement et éclatement de la paroi pariétale.

Il convient de remarquer que l'étude d'Okada et Kai (chez des souris exposées à 60 µg/kg/j de BPA), ne rapporte pas de modifications histologiques propres aux vésicules séminales ; ne sont pas modifiés, non plus le poids des organes reproducteurs ou le taux de testostérone [385].

III.6. Récapitulatif des études relatives aux effets du BPA sur la reproduction (tableau 58)

Au cours des dernières années, de nombreuses études effectuées, principalement, chez le rongeur, ont exploré les effets du BPA sur la reproduction ; essentiellement, à de faibles doses et par voie orale.

Parmi les études, *in vivo*, chez le rongeur, la plupart se concentrent sur l'exposition au cours de la gestation et la lactation, et plus, rarement, sur la période péripubertaire ou adulte.

Les études les plus intéressantes, sont celles réalisées à des doses de BPA, bien inférieures à la NOAEL de 5000 µg/kg/j ; ce qui se rapproche des niveaux potentiels d'exposition humaine.

La divergence des résultats rendus par les différentes études expérimentales, peut rendre complexe l'interprétation des résultats. Ces divergences sont, essentiellement, dues à des différences de protocole telles que les fenêtres d'exposition et le mode d'administration.

Un autre point de discussion, relatif à ces divergences, concerne la problématique de la dose-réponse non monotone, pouvant apparaître dans certains domaines de dose. Plusieurs publications rapportent des effets du BPA, plus importants, à faibles doses, qu'à des doses, relativement, plus élevées.

Cet effet paradoxal est au centre d'une récente étude, publiée en Mai 2020, dont les travaux sont fondés sur les données de l'expérience dite « Clarity-BPA » (The Consortium Linking Academic and Regulatory Insights), lancée, en 2012, par les autorités sanitaires américaines et un groupe de chercheurs académiques. Cette étude avait pour objectif de trancher la controverse sur les effets du BPA. Cette expérience a enrôlé un grand nombre de rats Sprague–Dawley exposés à cinq doses différentes de BPA (de 2,5 à 25000 µg/kg/j), depuis les premiers jours de gestation jusqu'à leur sevrage pour certains d'entre eux et tout au long de leur vie (comme le sont les humains) pour les autres.

L'analyse des glandes mammaires, a montré des effets de BPA, dits non monotones, avec un point de rupture entre les doses de 25 et 250 µg / kg/j. Des doses faibles ont entraîné des effets plus importants que ceux des doses, immédiatement, supérieures, jusqu'au point de rupture ; à partir de ce point, la relation dose-effet est devenue monotone (effet s'élevant avec la dose) [398].

In vivo, les relations non-monotones, identifiées dans la littérature, concernent les effets sur le développement (âge de la puberté, poids total), le comportement sexuel, l'activité de nombreux gènes impliqués dans le métabolisme gluco-lipidique, les glandes mammaires (structure et nombre de bourgeons mammaires). Elles portent, également, sur l'appareil reproducteur femelle (activité transcriptionnelle ovarienne, modification de l'expression de récepteurs hormonaux sur les cellules épithéliales utérines) et mâle (poids de l'épididyme, des vésicules séminales et des glandes préputiales) [271].

Tableau 58 : Effets du bisphénol A sur l'appareil reproducteur mâle. Tableau récapitulatif des études animales

Références / Année	Espèce	Dose Voie d'exposition	Période d'exposition	Observations	Effet critique
Notre étude 2020	Souris SWISS albinos	Orale 25, 50, 500,1000 µg/kg/j	Age adulte PND30 - PND60	-↓ poids total (* pour 500 et 1000 µg/kg/j) -↓ poids de l'épididyme (* pour 50,500 et 1000 µg/kg/j) -↑ poids prostate (* pour 500 et 1000 µg/kg/j) et ↑poids vésicules séminales (* pour 25, 50, 500 et 1000 µg/kg/j) -↓ nombre de SPZ et du taux LH, FSH, testostérone - Dystrophie des tubes séminifères, et une abondance de l'espace interstitiel. - Hyperplasie de l'épithélium glandulaire des vésicules avec foyers de nécrose.	Poids des organes reproducteurs
Salian <i>et al.</i> 2009 [378]	Rat Holtzman	Orale 1,2 et 2,4 µg/kg /j	GD12 - PND21	- ↑poids corporel (* à 2,4 µg/kg /j) -↓ taille des portées - ↑ significative des pertes post-implantatoires - ↓ nombre et mobilité des spermatozoïdes - ↑ délai accouplement - ↓ profil expression AR testiculaire (* 2,4 µg/kg/j)	Modifications des paramètres de la fertilité
Tyl <i>et al.</i> 2008 [390]	Souris ICR	Orale 0,003 - 0,03 - 0,3- 5 - 50 et 600 mg/kg /j	Exposition 10 semaines avant l'accouplement jusqu'à l'âge adulte	- Dans la large gamme de doses étudiées, et plus, particulièrement, aux doses compatibles avec une exposition humaine, pas d'effet sur la reproduction. - Présence d'effets, aux plus fortes doses (non pertinentes pour l'exposition humaine).	Aucun effet critique noté
Okada et Kai 2008 [385]	Souris ICR	Sous cutanée 1,2 – 60 µg/kg/j	GD6-PND28	- ↓ du pourcentage des tubes séminifères ayant des spermatides matures, chez les souris exposées à 60 µg/j BPA. -Pas de modification pour les autres paramètres observés (poids des organes reproducteurs, testostérone).	↓ du % de tubes séminifères ayant des spermatides matures.

Tableau 58 (suite) : Etudes animales portant sur les effets du bisphénol A sur l'appareil reproducteur mâle

Références Année	Espèce	Dose voie d'exposition	Période d'exposition	Observations	Effet critique
Kato <i>et al.</i> 2006 [397]	Rat Sprague Dawley	Sous cutanée 2 – 97000 µg/kg /j	PND0 - PND9	- Pas d'anomalies des paramètres reproductifs, ni des taux hormones. - Pas de modifications de l'expression des gènes dans le testicule, quelle que soit la dose de BPA	Aucun effet critique noté
Herath <i>et al.</i> 2004 [272]	Rat Wistar	Sous cutanée 3000 µg/kg/j	PND52 - PND87	-↓* du taux de testostérone plasmatique et du nombre de SPZ épидидymaires (sans modification de la mobilité spermatique).	.↓taux testostérone et nombre de SPZ
Kabuto <i>et al.</i> 2004 [383]	Souris ICR	Orale 5 ou 10 µg BPA/mL d'eau de boisson	une semaine avant accouplement - PND28	-Modifications des capacités antioxydantes et des dommages oxydatifs dans différents organes dont les testicules, quel que soit la dose. -Diminution du poids testiculaire (non relatifs) après exposition à 10 µg de BPA/mL d'eau de boisson.	Diminution du poids brut des testicules.
Chitra <i>et al.</i> 2003 [271]	Rat wistar	Orale 0,2 - 2 – 20 µg/kg /j	PND45 – PND90	-↓* poids relatifs des testicules et épидидymes, dès 0,2 µg/kg/j. - ↑ poids de la prostate -↓* mobilité des SPZ (0,2 µg/kg/j).	Diminution du poids relatif des testicules et épидидymes et de la mobilité des SPZ
Al-hiyasat <i>et al.</i> 2002 [384]	Souris Swiss	Orale 5,25 et 100 µg/kg/j	PND 60 - PND90	-↓*du nombre de femelles gravides (25 et 100 µg/kg/j) -↓ du nombre de sites d'implantation (500 et 1000 µg/kg/j) - ↓ production spermatique (5, 25, 100µg/kg/j)	-↓ nombre de femelles gravides
Takahashi <i>et al.</i> 2001 [376]	Rat -Fischer 344	IG et IP 466 et 950 mg/kg/j	PND 28 - PND 72	-↓* du poids de la prostate -Pas de modification significative pour le taux de testostérone.	-↓ du poids de la prostate

ICR : Imprinting Control Region - IG : intra-gastrique - IP : intra-péritonéale - * : Observation statistiquement significative

PND : Post Natal Day - GD : Gestation Day - SPZ : spermatozoïdes - AR : récepteurs androgéniques

CONCLUSION

La disparité des résultats rendus par les différentes études expérimentales, peut conduire à des difficultés d'interprétation quant aux effets du BPA, notamment, sur la fertilité masculine. Ces divergences sont, en partie, dues à des différences de protocole (fenêtres d'exposition et mode d'administration différents, co- exposition éventuelle) ou de souches testées, plus ou moins sensibles.

Bien que non, totalement, convergentes, l'ensemble de ces études reste en faveur d'une altération de la reproduction / fertilité, chez les rongeurs.

Notre travail expérimental avait pour objectif d'établir l'existence éventuelle d'un lien entre l'exposition au BPA et les performances mâles de reproduction, et ce, suite à une exposition de souris SWISS Albinos mâles adultes, à quatre doses de BPA (25, 50, 500 et 1000 µg/kg/j). L'expérimentation était basée sur les directives de la « ligne directrice 415 du protocole OCDE, relative à l'étude de toxicité sur la reproduction et la fertilité ».

Dans nos conditions expérimentales, Nous avons pu démontrer que le BPA affecte le poids des organes reproducteurs : diminution du poids des testicules et de l'épididyme ; augmentation du poids de la prostate ventrale (statistiquement, significative, aux doses de 500 et 1000 µg/kg/j) ; augmentation du poids des vésicules séminales, aux doses de 25, 50, 500 et 1000 µg/kg/j (statistiquement, significative, aux quatre doses testées).

L'histologie des testicules et des vésicules séminales est revenue modifiée, au regard des fortes doses (500 et 1000 µg/kg/j). Nous avons relevé, au niveau des testicules, une dystrophie des tubes séminifères, une discontinuité de la membrane basale et une abondance de l'espace interstitiel. Au niveau des vésicules séminales, il existe une hyperplasie de l'épithélium glandulaire où apparaissent des foyers de nécrose.

Nous avons, également, noté une réduction du nombre de spermatozoïdes testiculaires et épididymaires, aux doses de 50 et 1000 µg/kg/j.

Une baisse relative du taux de testostérone est relevée, aux doses de de 50, 500 et 1000 µg/kg/j, ainsi qu'une baisse du taux de FSH, aux doses de 500 et 1000 µg/kg/j. Cependant l'étude statistique n'a révélé de réduction significative que pour le taux de LH, à la dose de 25 µg/kg/j de BPA.

Enfin, on a pu signaler un impact de l'exposition au BPA sur la fertilité avec une diminution du nombre de femelles gravides et du nombre de points d'implantation, aux doses de 500 et 1000 µg/kg/j.

Nos résultats suggèrent que l'exposition au BPA, à des doses avoisinant la DJ (50 µg/kg/j) peut avoir un impact sur la fertilité et la reproduction des animaux d'expérience et, à fortiori, aux doses plus élevées de 500 et 1000 µg/kg/j.

Il convient de souligner que les effets des perturbateurs endocriniens sont très difficiles à objectiver selon les tests standards disponibles ; des protocoles spécifiques sont développés dans le but de mettre en évidence ces effets. Ces travaux ouvrent de nouvelles pistes de réflexion dans l'évaluation des dangers et des risques liés à l'exposition aux PE, ce qui ne manquera pas de compléter les connaissances actuelles.

S'agissant du bisphénol A, il est nécessaire de poursuivre les recherches susceptibles d'éclairer son implication dans les nombreux mécanismes physiopathologiques intervenant au niveau des systèmes de reproduction.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Le nombre de perturbateurs endocriniens répertoriés ne fait que croître au fil des années. Ils sont issus, pour la plupart, des activités industrielles et sont, largement, présents dans notre environnement. L'Homme et les animaux se trouvent, donc, exposés à de multiples perturbateurs endocriniens, à faibles concentrations, par le biais de l'environnement et des chaînes alimentaires.

Le bisphénol A est l'archétype du perturbateur endocrinien par excellence, il est reconnu et classé comme reprotoxique et il suscite, depuis plus d'une dizaine d'années, des inquiétudes croissantes pour la santé publique.

Le BPA est utilisé, massivement, dans l'industrie des matières plastiques, avec une production mondiale annuelle de plusieurs millions de tonnes. Ce polluant est ubiquitaire et persiste dans l'environnement car son relargage dans l'atmosphère est constant, provenant de sa manufacture mais, également, de tous les objets et produits du quotidien, pouvant le renfermer. Ainsi, la population générale, dans sa totalité, est exposée à ce composé par ingestion, inhalation ou pénétration cutanée.

Une revue de la littérature a permis de dégager ses mécanismes d'action potentiels sur la santé, en général, et plus, particulièrement, sur la fertilité: on sait, notamment, qu'il agit en tant qu'agoniste faible des récepteurs aux œstrogènes, mais il semble, également, interagir avec d'autres récepteurs endocriniens.

Que l'exposition, humaine, soit professionnelle ou environnementale, le problème des co-expositions, à différents toxiques suspectés comme perturbateurs endocriniens, empêche de connaître, précisément, le niveau d'exposition quotidienne au BPA et de le situer par rapport aux limites tolérables. Ces limites, ne sont, vraisemblablement, pas définitives car les organismes scientifiques internationaux attendent et critiquent, continuellement, les résultats de projets d'études à long terme. Cela indique le niveau d'incertitude concernant cette problématique.

Hypothétiquement, le BPA, même, à de faibles doses, peut contribuer à un effet cocktail, en combinaison avec d'autres produits chimiques, perturbateurs du système endocrinien, auxquels nous sommes, continuellement, exposés.

Le présent travail comporte deux études ; l'une, à caractère épidémiologique, rapporte les niveaux d'exposition d'un groupe de travailleurs de l'industrie plastique au bisphénol A. Il s'agit d'une première étude descriptive et analytique, menée, en Algérie. L'autre étude est expérimentale ; elle s'inscrit dans une démarche d'exploration des effets de l'exposition au bisphénol A, sur la fertilité masculine.

Nos résultats semblent offrir des preuves suggérant qu'une forte exposition professionnelle au BPA pourrait entraîner des effets néfastes sur la santé des travailleurs. Le caractère transversal de l'étude reste discutable ; des études longitudinales, additionnelles, engageant des mesures répétées du BPA, sont à mener afin de confirmer ces conclusions et, formellement, établir des liens éventuels de causalité au regard des associations « niveau d'exposition au BPA / Effets ».

Les résultats de l'étude épidémiologique objectivent un niveau d'exposition au BPA, suffisamment élevé, par rapport à la population générale, pour se préoccuper du risque qu'engendrerait le BPA sur la santé des travailleurs. Il existe une corrélation significative entre les taux de BPA et l'âge des travailleurs. Des différences significatives, entre travailleurs exposés et population témoin, ont été relevées quant aux taux de FSH, de glycémie, de triglycérides et de plaquettes sanguines. Le risque

Conclusion générale

de développer une hypertriglycéridémie est notable. Le risque de survenue de troubles de la fertilité ainsi que de troubles hormonaux, semble plus que probable.

Les paramètres professionnels s'imposent dans l'analyse des résultats ; des associations, fortement, significatives ont été notées entre les taux de BPA urinaire et les années de travail ainsi que le niveau d'exposition dans cette industrie du plastique.

De ce fait, il est impératif de prendre en considération les conditions des travailleurs qui exercent au sein des industries du plastique, afin de planifier de manière prioritaire, des actions de protection et de contrôle, visant une gestion sanitaire, notamment, un cadre réglementaire efficace.

Le deuxième volet de notre travail porte sur une étude expérimentale, sur souris. Ses résultats suggèrent que l'exposition au BPA, à des doses approchant l'ancienne DJA ($50 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$) peut avoir un impact sur la fertilité et la reproduction (poids des organes reproducteurs, histologie des vésicules séminales et des tubes séminifères, taux hormonaux, numération spermatique et nombre de femelles gravides).

L'ensemble des arguments et des conclusions, apportés dans ce travail, seront utiles à de futures études, à mener, en Algérie sur les tendances de l'exposition au bisphénol A et aux autres perturbateurs endocriniens.

L'Algérie semble rester à la marge, s'agissant de la prise de conscience relative à la problématique du BPA. Nous proposons à travers les résultats, de ce modeste travail, des recommandations à but préventif, à destination des instances concernées.

La stratégie d'action concernerait la population générale, en :

- Limitant l'exposition au BPA, des groupes vulnérables, tels que les enfants et les femmes enceintes.
- Restreignant, voire interdisant l'utilisation de matériaux renfermant du BPA dans les contenants alimentaires et produits pour bébés et de puériculture.
- Limitant l'usage des produits d'étanchéité pour fissures dentaires, fréquemment, utilisés de nos jours, à titre préventif, pour réduire le risque de carie chez les enfants et les adultes.
- Promouvant les campagnes d'information et de sensibilisation sur le BPA et les perturbateurs endocriniens, à travers les médias, les réseaux sociaux et des manifestations dédiées.

Au niveau professionnel, l'historique médical des expositions professionnelles à un toxique constitue le principal outil de diagnostic des maladies professionnelles. Le diagnostic correct d'une pathologie, imputée à une exposition spécifique à un toxique, permet un traitement approprié des travailleurs affectés et fournit une base pour la reconnaissance d'autres travailleurs exposés.

De façon générale, la problématique des perturbateurs endocriniens (PE) doit être intégrée dans une approche globale d'évaluation et de prévention des risques chimiques, en entreprise. Elle ne nécessite pas un traitement spécifique. La démarche de prévention des risques liés aux perturbateurs endocriniens, avérés et suspectés, est analogue à celle visant à réduire les expositions aux produits chimiques CMR (cancérogènes, mutagènes, reprotoxiques). Elle s'appuie sur des principes généraux. La stratégie porterait, donc, sur des mesures simples, mais essentielles telles que :

Conclusion générale

-Le changement de poste des travailleurs, fortement, exposés au PE, ceci concerne, en général, les travailleurs qui manipulent la matière première.

-Le remplacement des PE connus et classés par des alternatives plus sûres. Nous citons l'exemple du DEHP (phtalate de di (2-éthyl hexyle) qui était, très largement, utilisé comme plastifiant dans la fabrication des PVC souples. La mise en évidence des effets perturbateurs endocriniens de cette substance a conduit à des restrictions réglementaires. Le règlement européen REACH a, ainsi, permis d'interdire son utilisation au profit de plastifiants moins toxiques, comme le phtalate de diisononyle (DiNP)).

- la gestion du risque lié à la co-exposition à plusieurs composés chimiques, ce qui peut rendre difficile l'imputation des effets délétères à telle ou à telle substance ; par des normes nationales appropriées au milieu professionnel algérien ou par des normes internationales reconnues.

- Le dosage des substances toxiques sur le lieu de travail. Cette démarche constitue, traditionnellement, la principale méthode d'identification des risques de toxicité, auxquels sont exposés les travailleurs. Il s'agit, alors, de mesures de doses externes, attachées à des prélèvements atmosphériques ou surfaciques et révélant le niveau d'exposition. Ce dernier peut être, individuellement, déterminé par des dosages opérés sur des prélèvements biologiques (sang, urine..).

-La mise en place d'une politique globale, concernant une manipulation sûre et correcte de ces composés, représente une mesure de prévention efficace, cette politique commencerait tout d'abord par l'identification des composés utilisés. Cependant l'absence d'une définition commune et d'un étiquetage spécifique rendent complexe l'identification des perturbateurs endocriniens dans les environnements de travail.

-Le suivi technique routinier des moyens de prévention collective, comprenant la ventilation, l'aération et l'extraction d'air.

- Les équipements de protection individuelle (gants, vêtements de protection, masques respiratoires, lunettes de sécurité) sont nécessaires pour réduire le risque d'exposition, ce dernier ne pouvant être, totalement éliminé par les mesures de protection collective.

-La formation continue des médecins de travail et du staff médical. A leur tour, les médecins du travail doivent fournir aux travailleurs une formation et des informations adéquates quant au danger potentiel et les risques qu'ils encourent, sur le lieu de travail.

-Les femmes doivent bénéficier d'une prévention particulière. Le médecin du travail doit avertir les femmes, en âge de procréer, des dangers potentiels ; il doit, systématiquement, rechercher, à l'interrogatoire, durant les visites médicales, la survenue des difficultés de conception ; il doit leur rappeler l'importance du respect des mesures de prévention et les informer de la nécessité de l'avertir, dès le début de la grossesse. Le cas échéant, il propose, aux femmes enceintes et allaitantes, une adaptation ou un changement de poste.

-La mise en place de groupes multidisciplinaires comportant des médecins de travail, des toxicologues et des praticiens spécialistes de divers horizons ; ces groupes s'attachent à une veille sanitaire au regard du risque lié à l'exposition professionnelle.

Conclusion générale

-Les instances gouvernementales ont la responsabilité de prendre des actions visant à protéger la santé des travailleurs et de la population, de façon générale. Il s'agit de dispositions réglementaires et de contrôle portant sur les aspects aussi bien techniques que médicaux. La promotion et le soutien de la recherche devrait être une priorité afin d'objectiver les niveaux d'exposition aux PE et leurs effets, en milieu professionnel comme chez la population générale.

BIBLIOGRAPHIE

Bibliographie

1. McLachlan JA. Environmental Signaling: What Embryos and Evolution Teach Us About Endocrine Disrupting Chemicals. *Endocr Rev.* 1 juin 2001;22(3):319- 41.
2. Newbold RR, Banks EP, Bullock B, Jefferson WN. Uterine adenocarcinoma in mice treated neonatally with genistein. *Cancer Res.* 1 juin 2001;61(11):4325- 8.
3. McLachlan JA, Newbold RR, Bullock B. Reproductive tract lesions in male mice exposed prenatally to diethylstilbestrol. *Science.* 5 déc 1975;190(4218):991- 2.
4. Rochefort H, Jouannet P, Adolphe M, Jeanteur P, Jouannet P, Milgrom E, et al. Perturbateurs endocriniens (PEs) et cancers. Analyse des risques et des mécanismes, propositions pratiques. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine.* nov 2011;195(8):1965- 79.
5. Bergman Å, United Nations Environment Programme, World Health Organization. State of the science of endocrine disrupting chemicals - 2012 an assessment of the state of the science of endocrine disruptors [Internet]. Geneva: WHO : UNEP; 2013 [cité 12 déc 2019]. Disponible sur: <http://www.who.int/ceh/publications/endocrine/en/index.html>
6. Kortenkamp A, Olwenn Martin O, Faust M. State of the art assessment of endocrine disrupters final report. 2011 déc p. 135. Report No.: 070307/2009/550687/SER/D3.
7. Rouiller-Fabre V, Guerquin MJ, Nâ Tumba-Byn T, Muczynski V, Moison D, Tourpin S, et al. Nuclear Receptors and Endocrine Disruptors in Fetal and Neonatal Testes: A Gapped Landscape. *Front Endocrinol* [Internet]. 7 mai 2015 [cité 27 déc 2019];6. Disponible sur: http://www.frontiersin.org/Cellular_Endocrinology/10.3389/fendo.2015.00058/abstract
8. Caporossi L, Papaleo B. Bisphenol A and Metabolic Diseases: Challenges for Occupational Medicine. *IJERPH.* 25 août 2017;14(9):959.
9. Mansouri H , Reggabi M .Association entre diabète de type 2 et exposition aux polluants organiques persistants organochlorés : étude cas –témoin au laboratoire central de l'EHS Ali Ait Idir. Thèse de doctorat en sciences médicales. Université d'Alger 1;2020.
10. Benabed A, Mebtoul M. La procréation médicalement assistée à Oran : L'expérience sociale des femmes et des hommes infertiles. Thèse de doctorat en Sociologie .Université d'Oran 2;2017.
11. Lefèvre F. Perturbateurs endocriniens : des effets plausibles chez l'Homme [Internet]. [cité 12 déc 2019]. Disponible sur: <https://www.prescrire.org/Fr/3/31/46908/0/2011/ArchiveNewsDetails.aspx?page=4>
12. Chen zee E. Les perturbateurs endocriniens de notre environnement quotidien et leurs conséquences sur les principaux marqueurs de la périnatalité : revue de la littérature sur l'état actuel des connaissances. 2012. 168 p.
13. Fenichel P, Brucker-Davis F, Chevalier N. Perturbateurs endocriniens – Reproduction et cancers hormono-dépendants. *La Presse Médicale.* 1 janv 2016;45(1):63- 72.
14. Norman AW, Litwack G. Hormones. General considerations of hormones, chapter1; 1997. Vol. 2.
15. Janosek J, Hilscherová K, Bláha L, Holoubek I. Environmental xenobiotics and nuclear receptors--interactions, effects and in vitro assessment. *Toxicol In Vitro.* févr 2006;20(1):18- 37.

Bibliographie

16. Chatenet C. Les phytoestrogènes. *Actualités Pharmaceutiques*. 1 avr 2008; 47(473):10- 23.
17. Kuiper GG, Enmark E, Pelto-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 11 juin 1996; 93(12):5925.
18. Mosselman S, Polman J, Dijkema R. ER β : Identification and characterization of a novel human estrogen receptor. *FEBS Letters*. 1996;392(1):49- 53.
19. Drummond AE, Britt KL, Dyson M, Jones ME, Kerr JB, O'Donnell L, et al. Ovarian steroid receptors and their role in ovarian function. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 31 mai 2002;191(1):27- 33.
20. European Environment Agency, The impacts of endocrine disrupters on wildlife, people and their environments. 1996-2011.
21. Gustafsson J-A. What pharmacologists can learn from recent advances in estrogen signalling. *Trends Pharmacol Sci*. sept 2003;24(9):479- 85.
22. McPhaul MJ, Young M. Complexities of androgen action. *J Am Acad Dermatol*. sept 2001;45(3 Suppl):S87-94.
23. Ikeuchi T, Todo T, Kobayashi T, Nagahama Y. Two subtypes of androgen and progesterone receptors in fish testes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 1 juin 2001;129(2):449- 55.
24. Waller CL, Oprea TI, Chae K, Park H-K, Korach KS, Laws SC, et al. Ligand-Based Identification of Environmental Estrogens. *Chem Res Toxicol*. 1 janv 1996;9(8):1240- 8.
25. Price KR, Fenwick GR. Naturally occurring oestrogens in foods--a review. *Food Addit Contam*. juin 1985;2(2):73- 106.
26. Kaldas RS, Hughes CL. Reproductive and general metabolic effects of phytoestrogens in mammals. *Reproductive Toxicology*. 1 janv 1989;3(2):81- 9.
27. Arai Y, Mori T, Suzuki Y, Bern HA. Long-term Effects of Perinatal Exposure to Sex Steroids and Diethylstilbestrol on the Reproductive System of Male Mammals. In: Bourne GH, Danielli JF, Jeon KW, éditeurs. *International Review of Cytology* [Internet]. Academic Press; 1983 [cité 12 déc 2019]. p. 235- 68. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0074769608610190>
28. Swan SH, Kruse RL, Liu F, Barr DB, Drobni EZ, Redmon JB, et al. Semen quality in relation to biomarkers of pesticide exposure. *Environ Health Perspect*. sept 2003;111(12):1478- 84.
29. Barbier G, Rapport sur les perturbateurs endocriniens, le temps de la précaution. 2011.
30. Bar-El DS, Reifen R. Soy as an endocrine disruptor: cause for caution? *J Pediatr Endocrinol Metab*. sept 2010;23(9):855- 61.
31. Loumé L. Un perturbateur endocrinien dans les vernis à ongles ? [Internet]. *Sciences et Avenir*. [cité 12 déc 2019]. Disponible sur: https://www.sciencesetavenir.fr/sante/dermato/un-perturbateur-endocrinien-dans-les-verniss-a-ongles_102302.

Bibliographie

32. Oliver MC. How can chemical compounds alter human fertility? - PubMed - NCBI [Internet]. [cité 12 déc 2019]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11750951>
33. Kato S, Endoh H, Masuhiro Y, Kitamoto T, Uchiyama S, Sasaki H, et al. Activation of the Estrogen Receptor Through Phosphorylation by Mitogen-Activated Protein Kinase. *Science*. 1 déc 1995;270(5241):1491- 4.
34. Bunone G, Briand PA, Miksicek RJ, Picard D. Activation of the unliganded estrogen receptor by EGF involves the MAP kinase pathway and direct phosphorylation. *The EMBO Journal*. 1 mai 1996;15(9):2174.
35. Mani SK, Allen JM, Clark JH, Blaustein JD, O'Malley BW. Convergent pathways for steroid hormone- and neurotransmitter-induced rat sexual behavior. *Science*. 26 août 1994;265(5176):1246- 9.
36. Culig Z, Hobisch A, Cronauer MV, Radmayr C, Trapman J, Hittmair A, et al. Androgen Receptor Activation in Prostatic Tumor Cell Lines by Insulin-like Growth Factor-I, Keratinocyte Growth Factor, and Epidermal Growth Factor. *Cancer Res*. 15 oct 1994;54(20):5474- 8.
37. Vom Saal FS, Hughes C. An Extensive New Literature Concerning Low-Dose Effects of Bisphenol A Shows the Need for a New Risk Assessment. *Environ Health Perspect*. août 2005;113(8):926- 33.
38. Klocker H, Culig Z, Eder IE, Nessler-Menardi C, Hobisch A, Putz T, et al. Mechanism of Androgen Receptor Activation and Possible Implications for Chemoprevention Trials. *EUR*. 1999;35(5- 6):413- 9.
39. Kelce WR, Stone CR, Laws SC, Gray LE, Kempainen JA, Wilson EM. Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature*. juin 1995;375(6532):581- 5.
40. Maness SC, McDonnell DP, Gaido KW. Inhibition of Androgen Receptor-Dependent Transcriptional Activity by DDT Isomers and Methoxychlor in HepG2 Human Hepatoma Cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1 juill 1998;151(1):135- 42.
41. You L, Casanova M, Archibeque-Engle S, Sar M, Fan LQ, Heck HA. Impaired male sexual development in perinatal Sprague-Dawley and Long-Evans hooded rats exposed in utero and lactationally to p,p'-DDE. *Toxicol Sci*. oct 1998;45(2):162- 73.
42. Tamura H, Maness SC, Reischmann K, Dorman DC, Gray LE, Gaido KW. Androgen receptor antagonism by the organophosphate insecticide fenitrothion. *Toxicol Sci*. mars 2001;60(1):56- 62.
43. Ostby J, Kelce WR, Lambright C, Wolf CJ, Mann P, Gray LE. The fungicide procymidone alters sexual differentiation in the male rat by acting as an androgen-receptor antagonist in vivo and in vitro. *Toxicol Ind Health*. mars 1999;15(1- 2):80- 93.
44. Gray LE, Ostby J, Monosson E, Kelce WR. Environmental antiandrogens: low doses of the fungicide vinclozolin alter sexual differentiation of the male rat. *Toxicol Ind Health*. mars 1999;15(1- 2):48- 64.
45. Carilla E, Briley M, Fauran F, Sultan C, Duveilliers C. Binding of Permixon, a new treatment for prostatic benign hyperplasia, to the cytosolic androgen receptor in the rat prostate. *J Steroid Biochem*. janv 1984;20(1):521- 3.
46. Nadal A, Ropero AB, Laribi O, Maillet M, Fuentes E, Soria B. Nongenomic actions of estrogens and xenoestrogens by binding at a plasma membrane receptor unrelated to estrogen receptor alpha and estrogen receptor beta. *Proc Natl Acad Sci USA*. 10 oct 2000;97(21):11603- 8.

Bibliographie

47. Davis PJ, Tillmann HC, Davis FB, Wehling M. Comparison of the mechanisms of nongenomic actions of thyroid hormone and steroid hormones. *J Endocrinol Invest.* avr 2002;25(4):377- 88.
48. Razandi M, Pedram A, Greene GL, Levin ER. Cell membrane and nuclear estrogen receptors (ERs) originate from a single transcript: studies of ER α and ER β expressed in Chinese hamster ovary cells. *Mol Endocrinol.* févr 1999;13(2):307- 19.
49. Poland A, Glover E, Kende AS. Stereospecific, high affinity binding of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin by hepatic cytosol. Evidence that the binding species is receptor for induction of aryl hydrocarbon hydroxylase. *J Biol Chem.* 25 août 1976;251(16):4936- 46.
50. Safe SH. Comparative toxicology and mechanism of action of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1986;26:371- 99.
51. Schultz R, Suominen J, Värre T, Hakovirta H, Parvinen M, Toppari J, et al. Expression of aryl hydrocarbon receptor and aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator messenger ribonucleic acids and proteins in rat and human testis. *Endocrinology.* mars 2003;144(3):767- 76.
52. Pesatori AC, Consonni D, Bachetti S, Zocchetti C, Bonzini M, Baccarelli A, et al. Short- and long-term morbidity and mortality in the population exposed to dioxin after the « Seveso accident ». *Ind Health.* juill 2003;41(3):127- 38.
53. Gray LE, Ostby JS, Kelce WR. A dose-response analysis of the reproductive effects of a single gestational dose of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in male Long Evans Hooded rat offspring. *Toxicol Appl Pharmacol.* sept 1997;146(1):11- 20.
54. Simpson ER, Mahendroo MS, Means GD, Kilgore MW, Hinshelwood MM, Graham-Lorence S, et al. Aromatase cytochrome P450, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis. *Endocr Rev.* juin 1994;15(3):342- 55.
55. Roselli CE, Abdelgadir SE, Resko JA. Regulation of aromatase gene expression in the adult rat brain. *Brain Res Bull.* 1997;44(4):351- 7.
56. Van den Bossche H, Ruyschaert JM, Defrise-Quertain F, Willemsens G, Cornelissen F, Marichal P, et al. The interaction of miconazole and ketoconazole with lipids. *Biochem Pharmacol.* 15 août 1982;31(16):2609- 17.
57. Ayub M, Levell MJ. Inhibition of testicular 17 α -hydroxylase and 17,20-lyase but not 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase-isomerase or 17 β -hydroxysteroid oxidoreductase by ketoconazole and other imidazole drugs. *J Steroid Biochem.* nov 1987;28(5):521- 31.
58. Ayub M, Levell MJ. The inhibition of human prostatic aromatase activity by imidazole drugs including ketoconazole and 4-hydroxyandrostenedione. *Biochem Pharmacol.* 1 oct 1990;40(7):1569- 75.
59. Waller DP, Martin A, Vickery BH, Zaneveld LJ. The effect of ketoconazole on fertility of male rats. *Contraception.* avr 1990;41(4):411- 7.
60. Imperato-McGinley J. 5 α -reductase deficiency: human and animal models. *Eur Urol.* 1994;25 Suppl 1:20- 3.
61. Imperato-McGinley J, Binienda Z, Gedney J, Vaughan ED. Nipple differentiation in fetal male rats

Bibliographie

treated with an inhibitor of the enzyme 5 alpha-reductase: definition of a selective role for dihydrotestosterone. *Endocrinology*. janv 1986;118(1):132- 7.

62. Kirk CJ, Harris RM, Wood DM, Waring RH, Hughes PJ. Do dietary phytoestrogens influence susceptibility to hormone-dependent cancer by disrupting the metabolism of endogenous oestrogens? *Biochem Soc Trans*. mai 2001;29(Pt 2):209- 16.
63. Kester MHA, Bulduk S, Tibboel D, Meinl W, Glatt H, Falany CN, et al. Potent Inhibition of Estrogen Sulfotransferase by Hydroxylated PCB Metabolites: A Novel Pathway Explaining the Estrogenic Activity of PCBs. *Endocrinology*. 1 mai 2000;141(5):1897- 900.
64. Kester MHA, Bulduk S, van Toor H, Tibboel D, Meinl W, Glatt H, et al. Potent inhibition of estrogen sulfotransferase by hydroxylated metabolites of polyhalogenated aromatic hydrocarbons reveals alternative mechanism for estrogenic activity of endocrine disrupters. *J Clin Endocrinol Metab*. mars 2002;87(3):1142- 50.
65. Brouwer A, Morse DC, Lans MC, Schuur AG, Murk AJ, Klasson-Wehler E, et al. Interactions of persistent environmental organohalogenes with the thyroid hormone system: mechanisms and possible consequences for animal and human health. *Toxicol Ind Health*. avr 1998;14(1- 2):59- 84.
66. Martin ME, Haourigui M, Pelissero C, Benassayag C, Nunez EA. Interactions between phytoestrogens and human sex steroid binding protein. *Life Sci*. 1996;58(5):429- 36.
67. Messineo A, MacMillan JH, Palder SB, Filler RM. Clinical factors affecting mortality in children with malrotation of the intestine. *J Pediatr Surg*. oct 1992;27(10):1343- 5.
68. Lambright C, Ostby J, Bobseine K, Wilson V, Hotchkiss AK, Mann PC, et al. Cellular and Molecular Mechanisms of Action of Linuron: An Antiandrogenic Herbicide that Produces Reproductive Malformations in Male Rats. *Toxicol Sci*. 1 août 2000;56(2):389- 99.
69. Bayne CW, Donnelly F, Ross M, Habib FK. *Serenoa repens* (Permixon): a 5alpha-reductase types I and II inhibitor-new evidence in a coculture model of BPH. *Prostate*. 1 sept 1999;40(4):232- 41.
70. O'Neil MJ, Knovel (Firm). *The Merck index : an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals* [Internet]. 14th ed. Whitehouse Station, N.J. : Merck; 2006 [cité 12 déc 2019]. Disponible sur: <https://trove.nla.gov.au/work/11520754>
71. Setchell KD, Zimmer-Nechemias L, Cai J, Heubi JE. Exposure of infants to phyto-oestrogens from soy-based infant formula. *Lancet*. 5 juill 1997;350(9070):23- 7.
72. Fang N, Yu S, Badger TM. Characterization of isoflavones and their conjugates in female rat urine using LC-MS/MS. *J Agric Food Chem*. 24 avr 2002;50(9):2700- 7.
73. Xu X, Wang HJ, Murphy PA, Cook L, Hendrich S. Daidzein is a more bioavailable soymilk isoflavone than is genistein in adult women. *J Nutr*. juin 1994;124(6):825- 32.
74. Adlercreutz H, Höckerstedt K, Bannwart C, Bloigu S, Hämäläinen E, Fotsis T, et al. Effect of dietary components, including lignans and phytoestrogens, on enterohepatic circulation and liver metabolism of estrogens and on sex hormone binding globulin (SHBG). *Journal of Steroid Biochemistry*. 1 janv 1987;27(4):1135- 44.

Bibliographie

75. Bachour G, Failing K, Georgii S, Elmadfa I, Brunn H. Species and Organ Dependence of PCB Contamination in Fish, Foxes, Roe Deer, and Humans. *Arch Environ Contam Toxicol*. 1 nov 1998;35(4):666- 73.
76. Heberer T, Dünbier U. DDT Metabolite Bis(Chlorophenyl)acetic Acid: The Neglected Environmental Contaminant. *Environ Sci Technol*. 1 juill 1999;33(14):2346- 51.
77. Jensen AA, Slorach SA. Levels and trends of environmental chemicals in human milk. In 1991.
78. Adams C. D., Spitzer S., Cowan R. M. Biodegradation of Nonionic Surfactants and Effects of Oxidative Pretreatment. *Journal of Environmental Engineering*. 1 juin 1996;122(6):477- 83.
79. McLeese DW, Zitko V, Sergeant DB, Burrige LE, Metcalfe CD. Lethality and accumulation of alkylphenols in aquatic fauna. In 1981.
80. Balafas D, Shaw KJ, Whitfield FB. Phthalate and adipate esters in Australian packaging materials. *Food Chemistry*. 1999;3(65):279- 87.
81. Roumegas JL .Rapport d'information N° 1828. Commission des affaires européennes sur la stratégie européenne en matière de perturbateurs endocriniens [Internet]. [cité 12 déc 2019]. Disponible sur: <http://www.assemblee-nationale.fr/14/europe/rap-info/i1828.asp>
82. Le Bouc Y.Croissance et ses troubles [Internet].Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale INSERM. Juin 2013 [cité 12 déc 2019]. Disponible sur: <https://igpop2f1.inserm.fr/thematiques/biologie-cellulaire-developpement-et-evolution/dossiers-d-information/croissance-et-ses-troubles>
83. Bourgeois M-L. La différenciation des sexes et des genres. *Annales Médico-Psychologiques, Revue Psychiatrique*. juill 2010;168(6):471.
84. Fénichel P, Brucker-Davis F, Chevalier N. The history of Distilbène® (Diethylstilbestrol) told to grandchildren – the transgenerational effect. /data/revues/00034266/v76i3/S0003426615000293/ [Internet]. 22 juill 2015 [cité 12 déc 2019]; Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/en/article/990390>
85. Chaussinaud L. Les perturbateurs endocriniens. Université du Québec 2015.
86. Zacharewski T. Identification and assessment of endocrine disruptors: limitations of in vivo and in vitro assays. *Environ Health Perspect*. avr 1998;106(Suppl 2):577- 82.
87. Gray LE, Ostby J, Wilson V, Lambricht C, Bobseine K, Hartig P, et al. Xenoendocrine disruptors-tiered screening and testing. *Toxicology*. 181- 182:371- 82.
88. Lan NC, Katzenellenbogen BS. Temporal relationships between hormone receptor binding and biological responses in the uterus: studies with short- and long-acting derivatives of estriol. *Endocrinology*. janv 1976;98(1):220- 7.
89. OECD. The use of metabolising systems for in vitro testing of endocrine disruptors 2006. [En ligne] Disponible sur : www.oecd.org.
90. Gelbke H-P, Hofmann A, Owens JW, Freyberger A. The enhancement of the subacute repeat dose toxicity test OECD TG 407 for the detection of endocrine active chemicals: comparison with toxicity tests of

Bibliographie

longer duration. Arch Toxicol. 1 avr 2007;81(4):227- 50.

91. Maitre JL, Mercier L, Dolo L, Valotaire Y. [Characterization of specific receptors for estradiol, induction of vitellogenin and its mRNA in the liver of rainbow trout (*Salmo gairdnerii*)]. Biochimie. févr 1985;67(2):215- 25.
92. Crews D, Bergeron JM, Bull JJ, Flores D, Tousignant A, Skipper JK, et al. Temperature-dependent sex determination in reptiles: proximate mechanisms, ultimate outcomes, and practical applications. Dev Genet. 1994;15(3):297- 312.
93. Stillman RJ. In utero exposure to diethylstilbestrol: adverse effects on the reproductive tract and reproductive performance and male and female offspring. Am J Obstet Gynecol. 1 avr 1982;142(7):905- 21.
94. Klein KO, Baron J, Colli MJ, McDonnell DP, Cutler GB. Estrogen levels in childhood determined by an ultrasensitive recombinant cell bioassay. J Clin Invest. 1 déc 1994;94(6):2475- 80.
95. Vermeirssen ELM, Körner O, Schönenberger R, Burkhardt-Holm P. Characterization of Environmental Estrogens in River Water Using a Three Pronged Approach: Active and Passive Water Sampling and the Analysis of Accumulated Estrogens in the Bile of Caged Fish. Environ Sci Technol. 1 nov 2005;39(21):8191- 8.
96. Vermeirssen ELM, Burki R, Joris C, Peter A, Segner H, Suter MJF, et al. Characterization of the estrogenicity of Swiss midland rivers using a recombinant yeast bioassay and plasma vitellogenin concentrations in feral male brown trout. Environ Toxicol Chem. sept 2005;24(9):2226- 33.
97. Dodds EC, Goldberg L, Lawson W, Robinson R, Lawson W, Robinson-O'Brien R, et al. OEstrogenic Activity of Certain Synthetic Compounds. 1 janv 1938 [cité 12 déc 2019]; Disponible sur: <https://www.scienceopen.com/document?vid=493e0435-3ece-4121-8fac-bbfbd2312520>
98. INRS, Base de données fiches toxicologiques, Bisphénol A Fiche toxicologique n°279- Edition : Juin 2017. Disponible sur : www.inrs.fr/fichetox.
99. INERIS, Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Bisphénol A | Substitution des bisphénols [Internet]. [cité 12 déc 2019]. Disponible sur: <https://substitution-bp.ineris.fr/fr/document/donnees-technico-economiques-substances-chimiques-en-france-bisphenol>
100. INRS, Base de données fiches toxicologiques. Bisphénol A (FT 279). Généralités - Fiche toxicologique - Institut National de la Recherche Scientifique INRS [Internet]. [cité 12 déc 2019]. Disponible sur: http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_279
101. Bendridi N, Pugeat M, Université Claude Bernard (Lyon). Interaction de la protéine de transport plasmatique humaine des hormones stéroïdiennes sexuelles (Sex Steroid Hormone-Binding Globulin) (SHBG) avec un xéno-oestrogène, le Bisphénol A. 2001.
102. Collet S. Développement d'une approche toxicocénitique /toxicodynamique basée sur des mécanismes physiologiques pour évaluer les effets ostrogéniques du bisphénol A .Thèse de doctorat en pathologie, toxicologie, génétique et nutrition. Université de Toulouse ;2012 ,17-20.
103. Michałowicz J. Bisphenol A--sources, toxicity and biotransformation. Environ Toxicol Pharmacol. mars 2014;37(2):738- 58.
104. Richter CA, Birnbaum LS, Farabollini F, Newbold RR, Rubin BS, Talsness CE, et al. In Vivo Effects of

Bibliographie

- Bisphenol A in Laboratory Rodent Studies. *Reprod Toxicol.* 2007;24(2):199- 224.
105. Halden RU. Plastics and Health Risks. *Annual Review of Public Health.* 2010;31(1):179- 94.
106. Almeida S, Raposo A, Almeida-González M, Carrascosa C. Bisphenol A: Food Exposure and Impact on Human Health: Bisphenol A and human health effect.... *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* nov 2018;17(6):1503- 17.
107. Plast Alger. L'industrie plastique algérienne [Internet]. [cité 12 déc 2019]. Disponible sur: <https://www.plastalger.com/plastalger-marche-des-plastiques.html>
108. Puthon M. Caractérisation de l'élimination du bisphénol A et de ses formes conjuguées par la foetus ovin. :81.
109. Geens T, Aerts D, Berthot C, Bourguignon J-P, Goeyens L, Lecomte P, et al. A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. *Food and Chemical Toxicology.* 1 oct 2012;50(10):3725- 40.
110. Biedermann S, Tschudin P, Grob K. Transfer of bisphenol A from thermal printer paper to the skin. *Anal Bioanal Chem.* 1 sept 2010;398(1):571- 6.
111. Flint S, Markle T, Thompson S, Wallace E. Bisphenol A exposure, effects, and policy: a wildlife perspective. *J Environ Manage.* 15 août 2012;104:19- 34.
112. ANSES, rapport « Effets sanitaires du bisphénol A (BPA) » et « Connaissances relatives aux usages du bisphénol A » | Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail [Internet]. [cité 12 déc 2019]. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/content/rapport-effets-sanitaires-du-bisph%C3%A9nol-bpa-et-connaissances-relatives-aux-usages-du-bpa>
113. Ike M, Jin CS, Fujita M. Biodegradation of bisphenol A in the aquatic environment. *Water Sci Technol.* 1 oct 2000;42(7- 8):31- 8.
114. Kang J-H, Kondo F. Bisphenol a degradation by bacteria isolated from river water. *Arch Environ Contam Toxicol.* oct 2002;43(3):265- 9.
115. Kang J-H, Kondo F. Effects of bacterial counts and temperature on the biodegradation of bisphenol A in river water. *Chemosphere.* nov 2002;49(5):493- 8.
116. Nakatani N, Hashimoto N, Sakugawa H. An evaluation of hydroxyl radical formation in river water and the potential for photodegradation of bisphenol A. In: Hill RJ, Leventhal J, Aizenshtat Z, Baedecker MJ, Claypool G, Eganhouse R, et al., éditeurs. *The Geochemical Society Special Publications* [Internet]. Elsevier; 2004 [cité 12 déc 2019]. p. 233- 42. (*Geochemical Investigations in Earth and Space Science: A Tribute to Isaac R. Kaplan*; vol. 9). Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S187398810480018X>
117. Neamțu M, Frimmel FH. Degradation of endocrine disrupting bisphenol A by 254 nm irradiation in different water matrices and effect on yeast cells. *Water Res.* déc 2006;40(20):3745- 50.
118. Barbieri Y, Massad WA, Díaz DJ, Sanz J, Amat-Guerri F, García NA. Photodegradation of bisphenol A and related compounds under natural-like conditions in the presence of riboflavin: kinetics, mechanism and photoproducts. *Chemosphere.* sept 2008;73(4):564- 71.

Bibliographie

119. Cladière M. Sources, transfert et devenir des alkylphénols et du bisphénol A dans le bassin amont de la Seine: cas de la région Île-de-France. :255.
120. Kang JH, Katayama Y, Kondo F. Biodegradation or metabolism of bisphenol A: From microorganisms to mammals. TOXICOLOGY. 16 janv 2006;217(2- 3):81- 90.
121. Brede C, Fjeldal P, Skjevraak I, Herikstad H. Increased migration levels of bisphenol A from polycarbonate baby bottles after dishwashing, boiling and brushing. Food Addit Contam. juill 2003;20(7):684- 9.
122. INRS .Valeurs limites d'exposition professionnelle aux agents chimiques en France - Brochure - Institut National de la Recherche Scientifique INRS [Internet]. [cité 12 déc 2019]. Disponible sur: <http://www.inrs.fr/media.html?refINRS=ED%20984>
123. Vandenberg LN, Chahoud I, Heindel JJ, Padmanabhan V, Paumgartten FJR, Schoenfelder G. Urinary, Circulating, and Tissue Biomonitoring Studies Indicate Widespread Exposure to Bisphenol A. Ciência & Saúde Coletiva. févr 2012;17(2):407- 34.
124. Julian B. Métabolisme du bisphénol A, de la vinchlozoline et de la génistéine dans les systèmes biologiques utilisés pour étudier les perturbateurs endocriniens : conséquences en terme de toxicité. :168.
125. Rubin BS. Bisphenol A: an endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects. J Steroid Biochem Mol Biol. oct 2011;127(1- 2):27- 34.
126. Journal officiel de l'Union européenne. Règlement d'exécution (UE) No 321/2011 de la commission du 1er avril 2011 modifiant le règlement (UE) No 10/2011 en ce qui concerne la restriction de l'utilisation du bisphénol A dans les biberons en plastique pour nourrissons. Bruxelles 2011.
127. Assemblée nationale, Sénat. LOI n° 2010-729 du 30 juin 2010 [Internet]. Disponible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/>.
128. Alonso-Magdalena P, Ropero AB, Soriano S, García-Arévalo M, Ripoll C, Fuentes E, et al. Bisphenol-A acts as a potent estrogen via non-classical estrogen triggered pathways. Mol Cell Endocrinol. 22 mai 2012;355(2):201- 7.
129. Journal officiel de l'Union européenne. Règlement (UE) 2016/2235 de la commission du 12 décembre 2016 modifiant l'annexe XVII du règlement (CE) no 1907/2006 du Parlement européen et du Conseil concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances (REACH), en ce qui concerne le bisphénol A. Bruxelles 2016.
130. European Chemicals Agency. Member State Committee for identification the Bisphenol A as a substance of very high concern because of its endocrine disrupting properties. ECHA/PR/17/12. Helsinki 2017.
131. Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) .Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a request from the Commission related to 2, 2-bis (4-hydroxyphenyl) propane (Bisphenol A). The EFSA Journal (2006) 428, 1-75. Disponible sur http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620772817.htm.
132. Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA). Avis scientifique sur le bisphénol A.2015.

Bibliographie

Disponible sur <http://www.efsa.europa.eu/fr/topics/topic/bisphenol>.

133. Rouillon S. Développement et validation de méthodes pour le biomonitoring de perturbateurs endocriniens chez la femme enceinte. [POITIERS]: UNIVERSITE DE POITIERS; 2018.
134. Assemblée nationale française .Projet de loi numéro 171 pour l'équilibre des relations commerciales dans le secteur agricole et alimentaire et une alimentation saine, durable et accessible à tous,. 171 sept 14, 2018.
135. Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS). Bisphénol A (poussières inhalables) - Aide-mémoire technique « Les valeurs limites d'exposition professionnelle aux agents chimiques ». ED 984, 2012. Disponible sur : <http://www.inrs.fr>.
136. Journal officiel de la république algérienne démocratique et populaire. Arrêté interministériel du 6 Chaoual 1437 correspondant au 11 juillet 2016 portant adoption du règlement technique fixant les exigences de sécurité des articles de puériculture. Journal officiel de la république algérienne démocratique et populaire N° 68 juill 16, 2016 p. 16.
137. Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS). Bisphénol A (BPA) .Base de données BIOTOX. Edition : Avril 2017.Disponible sur : <http://www.inrs.fr/biotox>.
138. Doerge DR, Twaddle NC, Woodling KA, Fisher JW. Pharmacokinetics of bisphenol A in neonatal and adult rhesus monkeys. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1 oct 2010;248(1):1- 11.
139. Yoo SD, Shin BS, Lee BM, Lee KC, Han S-Y, Kim HS, *et al.* Bioavailability and mammary excretion of bisphenol a in sprague-dawley rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A [Internet]*. 7 janv 2011 [cité 12 déc 2019]; Disponible sur: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/152873901753170740>
140. Völkel W, Colnot T, Csanády GA, Filser JG, Dekant W. Metabolism and Kinetics of Bisphenol A in Humans at Low Doses Following Oral Administration. *Chem Res Toxicol*. 1 oct 2002;15(10):1281- 7.
141. Pottenger LH, Domoradzki JY, Markham DA, Hansen SC, Cagen SZ, Waechter JM. The relative bioavailability and metabolism of bisphenol A in rats is dependent upon the route of administration. *Toxicol Sci*. mars 2000;54(1):3- 18.
142. Negishi T, Tominaga T, Ishii Y, Kyuwa S, Hayasaka I, Kuroda Y, *et al.* Comparative Study on Toxicokinetics of Bisphenol A in F344 Rats, Monkeys (*Macaca fascicularis*), and Chimpanzees (*Pan troglodytes*). *Exp Anim*. 2004;53(4):391- 4.
143. Yamasaki K, Sawaki M, Takatsuki M. Immature Rat Uterotrophic Assay of Bisphenol A. *Environmental Health Perspectives*. 2000;108(12):1147- 50.
144. Sakamoto H, Yokota H, Kibe R, Sayama Y, Yuasa A. Excretion of bisphenol A-glucuronide into the small intestine and deconjugation in the cecum of the rat. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 14 nov 2002;1573(2):171- 6.
145. Collet S. Développement d'une approche toxicocinétique/toxicodynamique basée sur des mécanismes physiologiques pour évaluer les effets oestrogéniques du Bisphénol A. :218.
146. Nagel SC, Saal FS vom, Thayer KA, Dhar MG, Boechler M, Welshons WV. Relative Binding Affinity-

Bibliographie

- Serum Modified Access (RBA-SMA) Assay Predicts the Relative In Vivo Bioactivity of the Xenoestrogens Bisphenol A and Octylphenol. *Environmental Health Perspectives*. 1997;105(1):70- 6.
147. Teeguarden JG, Waechter JM, Clewell HJ, Covington TR, Barton HA. Evaluation of Oral and Intravenous Route Pharmacokinetics, Plasma Protein Binding, and Uterine Tissue Dose Metrics of Bisphenol A: A Physiologically Based Pharmacokinetic Approach. *Toxicol Sci*. 1 juin 2005;85(2):823- 38.
148. Déchaud H, Ravard C, Claustrat F, de la Perrière AB, Pugeat M. Xenoestrogen interaction with human sex hormone-binding globulin (hSHBG)1. *Steroids*. 1 mai 1999;64(5):328- 34.
149. Shin BS, Kim CH, Jun YS, Kim DH, Lee BM, Yoon CH, et al. Physiologically based pharmacokinetics of bisphenol A. *J Toxicol Environ Health Part A*. déc 2004;67(23- 24):1971- 85.
150. Upmeier A, Degen GH, Diel P, Michna H, Bolt HM. Toxicokinetics of bisphenol A in female DA/Han rats after a single i.v. and oral administration. *Arch Toxicol*. 1 oct 2000;74(8):431- 6.
151. Kurebayashi H, Betsui H, Ohno Y. Disposition of a Low Dose of 14C-Bisphenol A in Male Rats and Its Main Biliary Excretion as BPA Glucuronide. *Toxicol Sci*. 1 mai 2003;73(1):17- 25.
152. Inoue H, Yuki G, Yokota H, Kato S. Bisphenol A Glucuronidation and Absorption in Rat Intestine. *Drug Metab Dispos*. 1 janv 2003;31(1):140- 4.
153. Matthews JB, Twomey K, Zacharewski TR. In Vitro and in Vivo Interactions of Bisphenol A and Its Metabolite, Bisphenol A Glucuronide, with Estrogen Receptors α and β . *Chem Res Toxicol*. 1 févr 2001;14(2):149- 57.
154. Marie-Luce C. Etude des mécanismes d'action mis en jeu par la testostérone dans la régulation du comportement sexuel mâle. :279.
155. Ginsberg G, Rice Deborah C. Does Rapid Metabolism Ensure Negligible Risk from Bisphenol A? *Environmental Health Perspectives*. 1 nov 2009;117(11):1639- 43.
156. Taylor JA, Saal FS vom, Welshons WV, Drury B, Rottinghaus G, Hunt PA, et al. Similarity of bisphenol a pharmacokinetics in rhesus monkeys and Mice: Relevance for human exposure. *Environmental Health Perspectives*. févr 2011;119(2):422- 30.
157. Pritchett JJ, Kuester RK, Sipes IG. Metabolism of Bisphenol A in Primary Cultured Hepatocytes from Mice, Rats, and Humans. *Drug Metab Dispos*. 1 nov 2002;30(11):1180- 5.
158. Nakamura S, Tezuka Y, Ushiyama A, Kawashima C, Kitagawara Y, Takahashi K, et al. Ipso substitution of bisphenol A catalyzed by microsomal cytochrome P450 and enhancement of estrogenic activity. *Toxicology Letters*. Mai 2011;203(1):92- 5.
159. Zalko D, Soto AM, Dolo L, Dorio C, Rathahao E, Debrauwer L, et al. Biotransformations of bisphenol A in a mammalian model: answers and new questions raised by low-dose metabolic fate studies in pregnant CD1 mice. *Environ Health Perspect*. Mars 2003;111(3):309- 19.
160. Hawksworth G, Drasar BS, Hill MJ. Intestinal bacteria and the hydrolysis of glycosidic bonds. *J Med Microbiol*. nov 1971;4(4):451- 9.
161. ANSES. Effets Sanitaires du Bisphénol A. Rapport d'expertise collective.

Bibliographie

- <https://www.anses.fr/sites/default/files/documents/CHIM-Ra-BisphenolA> [Internet]. [cité 12 déc 2019]. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/docs/perturbateurs-endocriniens-etat-des-lieux-et-perspectives-en-promotion-de-la-sante>
162. Clark AG, Hirom PC, Millburn P, Smith RL, Williams RT. Reabsorption from the biliary system as a factor influencing the biliary excretion of organic anions. *Biochem J*. Déc 1969; 115(5):62P.
163. Toutain P-L, Ferran A, Bousquet-Mélou A. Species differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Handb Exp Pharmacol*. 2010;(199):19- 48.
164. Determe G. Bisphénol A en Odontologie : données actuelles [Internet] [exercice]. Université Toulouse III - Paul Sabatier; 2016 [cité 13 déc 2019]. Disponible sur: <http://thesesante.ups-tlse.fr/1591/>
165. Tournier M. Application du dosage radioimmunologique du glucuronide de bisphenol A dans les urines d'une population de femmes présentant un syndrome des ovaires polykystiques. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Claude Bernard-Lyon 1 ;2014,36-40.
166. INSERM. Reproduction et environnement [Internet]. Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale INSERM - La science pour la santé. [cité 13 déc 2019]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/information-en-sante/expertises-collectives/reproduction-et-environnement>
167. Fenichel P, Chevalier N, Brucker-Davis F. Bisphenol A: An endocrine and metabolic disruptor. </data/revues/00034266/v74i3/S0003426613000772/> [Internet]. 16 juill 2013 [cité 13 déc 2019]; Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/en/article/823124>
168. Wetherill YB, Akingbemi BT, Kanno J, McLachlan JA, Nadal A, Sonnenschein C, et al. In vitro molecular mechanisms of bisphenol A action. *Reproductive toxicology*. 2007;24(2):178- 98.
169. Kurosawa T, Hiroi H, Tsutsumi O, Ishikawa T, Osuga Y, Fujiwara T, et al. The Activity of Bisphenol A Depends on Both the Estrogen Receptor Subtype and the Cell Type. *Endocrine Journal*. 2002;49(4):465- 71.
170. Riom A. Bisphénol A : d'autres mécanismes d'action révélés in vivo. ENS de Lyon .2014 ;3 :1-2.
171. Ohore OE, Zhang S. Endocrine disrupting effects of bisphenol A exposure and recent advances on its removal by water treatment systems. A review. *Scientific African*. sept 2019;5:e00135.
172. WHO. Diabetes. World Health Organization [Internet]. [cité 13 déc 2019]. Disponible sur: <https://www.who.int/health-topics/diabetes>.
173. Rezg R, El-Fazaa S, Gharbi N, Mornagui B. Bisphenol A and human chronic diseases: current evidences, possible mechanisms, and future perspectives. *Environ Int*. mars 2014;64:83- 90.
174. Rochester JR. Bisphenol A and human health: a review of the literature. *Reprod Toxicol*. déc 2013;42:132- 55.
175. Kalfa N, Paris F, Philibert P, Orsini M, Broussous S, Fauconnet-Servant N, et al. Is Hypospadias Associated with Prenatal Exposure to Endocrine Disruptors? A French Collaborative Controlled Study of a Cohort of 300 Consecutive Children Without Genetic Defect. *Eur Urol*. déc 2015;68(6):1023- 30.
176. Ayyanan A, Laribi O, Schuepbach-Mallepell S, Schrick C, Gutierrez M, Tanos T, et al. Perinatal exposure to bisphenol a increases adult mammary gland progesterone response and cell number. *Mol*

Bibliographie

Endocrinol. nov 2011;25(11):1915- 23.

177. Fénichel P, Philippat C. Département cancer et environnement .Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale INSERM. Perturbateurs endocriniens et risque de cancer | Cancer et environnement [Internet]. [cité 13 déc 2019]. Disponible sur: <https://www.cancer-environnement.fr/274-Perturbateurs-endocriniens.ce.aspx>

178. Song H, Zhang T, Yang P, Li M, Yang Y, Wang Y, et al. Low doses of bisphenol A stimulate the proliferation of breast cancer cells via ERK1/2/ERR γ signals. *Toxicology in Vitro*. déc 2015;30(1):521- 8.

179. Ryan BC, Vandenberg JG. Developmental exposure to environmental estrogens alters anxiety and spatial memory in female mice. *Horm Behav*. juin 2006;50(1):85- 93.

180. Durando M, Kass L, Piva J, Sonnenschein C, Soto AM, Luque EH, et al. Prenatal bisphenol A exposure induces preneoplastic lesions in the mammary gland in Wistar rats. *Environ Health Perspect*. janv 2007;115(1):80- 6.

181. Muñoz-de-Toro M, Markey CM, Wadia PR, Luque EH, Rubin BS, Sonnenschein C, et al. Perinatal exposure to bisphenol-A alters peripubertal mammary gland development in mice. *Endocrinology*. sept 2005;146(9):4138- 47.

182. Markey CM, Luque EH, Munoz De Toro M, Sonnenschein C, Soto AM. In utero exposure to bisphenol A alters the development and tissue organization of the mouse mammary gland. *Biol Reprod*. oct 2001;65(4):1215- 23.

183. Murray TJ, Maffini MV, Ucci AA, Sonnenschein C, Soto AM. Induction of mammary gland ductal hyperplasias and carcinoma in situ following fetal bisphenol A exposure. *Reprod Toxicol*. mai 2007;23(3):383- 90.

184. Bredhult C, Bäcklin B-M, Olovsson M. Effects of some endocrine disruptors on the proliferation and viability of human endometrial endothelial cells in vitro. *Reprod Toxicol*. juin 2007;23(4):550- 9.

185. Bredhult C, Sahlin L, Olovsson M. Gene expression analysis of human endometrial endothelial cells exposed to Bisphenol A. *Reprod Toxicol*. juill 2009;28(1):18- 25.

186. Itoh H, Iwasaki M, Hanaoka T, Sasaki H, Tanaka T, Tsugane S. Urinary bisphenol-A concentration in infertile Japanese women and its association with endometriosis: A cross-sectional study. *Environ Health Prev Med*. nov 2007;12(6):258- 64.

187. Cobellis L, Colacurci N, Trabucco E, Carpentiero C, Grumetto L. Measurement of bisphenol A and bisphenol B levels in human blood sera from healthy and endometriotic women. *Biomed Chromatogr*. nov 2009;23(11):1186- 90.

188. Hess-Wilson JK, Webb SL, Daly HK, Leung Y-K, Boldison J, Comstock CES, et al. Unique bisphenol A transcriptome in prostate cancer: novel effects on ER β expression that correspond to androgen receptor mutation status. *Environ Health Perspect*. nov 2007;115(11):1646- 53.

189. Sabanayagam C, Teppala S, Shankar A. Relationship between urinary bisphenol A levels and prediabetes among subjects free of diabetes. *Acta Diabetol*. août 2013;50(4):625- 31.

190. Lang IA, Galloway TS, Scarlett A, Henley WE, Depledge M, Wallace RB, et al. Association of urinary

Bibliographie

- bisphenol A concentration with medical disorders and laboratory abnormalities in adults. *JAMA*. 17 sept 2008;300(11):1303- 10.
191. Shankar A, Teppala S. Relationship between urinary bisphenol A levels and diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. déc 2011;96(12):3822- 6.
192. Hong S, Sung Y-A, Hong YS, Ha E, Jeong K, Chung H, et al. Urinary bisphenol A is associated with insulin resistance and obesity in reproductive-aged women. *Clinical Endocrinology*. 2017;86(4):506- 12.
193. Ning G, Bi Y, Wang T, Xu M, Xu Y, Huang Y, et al. Relationship of urinary bisphenol A concentration to risk for prevalent type 2 diabetes in Chinese adults: a cross-sectional analysis. *Ann Intern Med*. 20 sept 2011;155(6):368- 74.
194. Kim K, Park H. Association between urinary concentrations of bisphenol A and type 2 diabetes in Korean adults: a population-based cross-sectional study. *Int J Hyg Environ Health*. juill 2013;216(4):467- 71.
195. Melzer D, Rice NE, Lewis C, Henley WE, Galloway TS. Association of urinary bisphenol a concentration with heart disease: evidence from NHANES 2003/06. *PLoS ONE*. 13 janv 2010;5(1):e8673.
196. Savastano S, Tarantino G, D'Esposito V, Passaretti F, Cabaro S, Liotti A, et al. Bisphenol-A plasma levels are related to inflammatory markers, visceral obesity and insulin-resistance: a cross-sectional study on adult male population. *J Transl Med*. 29 mai 2015;13:169.
197. Silver MK, O'Neill MS, Sowers MR, Park SK. Urinary bisphenol A and type-2 diabetes in U.S. adults: data from NHANES 2003-2008. *PLoS ONE*. 2011;6(10):e26868.
198. Melzer D, Gates P, Osborne NJ, Osborn NJ, Henley WE, Cipelli R, et al. Urinary bisphenol a concentration and angiography-defined coronary artery stenosis. *PLoS ONE*. 2012;7(8):e43378.
199. Melzer D, Osborne NJ, Henley WE, Cipelli R, Young A, Money C, et al. Urinary bisphenol A concentration and risk of future coronary artery disease in apparently healthy men and women. *Circulation*. 27 mars 2012;125(12):1482- 90.
200. Song Y, Hauser R, Hu FB, Franke AA, Liu S, Sun Q. Urinary concentrations of bisphenol A and phthalate metabolites and weight change: a prospective investigation in US women. *Int J Obes (Lond)*. déc 2014;38(12):1532- 7.
201. Shankar A, Teppala S, Sabanayagam C. Bisphenol A and Peripheral Arterial Disease: Results from the NHANES. *Environ Health Perspect*. sept 2012;120(9):1297- 300.
202. Bae S, Kim JH, Lim Y-H, Park HY, Hong Y-C. Associations of bisphenol A exposure with heart rate variability and blood pressure. *Hypertension*. sept 2012;60(3):786- 93.
203. Carwile JL, Michels KB. Urinary bisphenol A and obesity: NHANES 2003–2006. *Environmental Research*. août 2011;111(6):825- 30.
204. Rönn M, Lind L, Örberg J, Kullberg J, Söderberg S, Larsson A, et al. Bisphenol A is related to circulating levels of adiponectin, leptin and ghrelin, but not to fat mass or fat distribution in humans. *Chemosphere*. oct 2014;112:42- 8.
205. Wang T, Li M, Chen B, Xu M, Xu Y, Huang Y, et al. Urinary bisphenol A (BPA) concentration associates

Bibliographie

with obesity and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* févr 2012;97(2):E223-227.

206. Andra SS, Makris KC. Association between urinary levels of bisphenol A and its monochlorinated derivative and obesity. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.* 2015;50(11):1169- 79.
207. Zhao H, Bi Y, Ma L, Zhao L, Wang T, Zhang L, et al. The effects of bisphenol A (BPA) exposure on fat mass and serum leptin concentrations have no impact on bone mineral densities in non-obese premenopausal women. *Clin Biochem.* déc 2012;45(18):1602- 6.
208. Shankar A, Teppala S, Sabanayagam C. Urinary bisphenol a levels and measures of obesity: results from the national health and nutrition examination survey 2003-2008. *ISRN Endocrinol.* 2012;2012:965243.
209. Metwally FM, Mohamed MM. The Impact of Bisphenol A (BPA) As Environmental Obesogen on Lipids and Lipids Metabolism. 2016;8(9):8.
210. Mahalingaiah S, Meeker JD, Pearson KR, Calafat AM, Ye X, Petrozza J, et al. Temporal variability and predictors of urinary bisphenol A concentrations in men and women. *Environ Health Perspect.* févr 2008;116(2):173- 8.
211. Takeuchi T, Tsutsumi O, Ikezuki Y, Takai Y, Taketani Y. Positive relationship between androgen and the endocrine disruptor, bisphenol A, in normal women and women with ovarian dysfunction. *Endocr J.* avr 2004;51(2):165- 9.
212. Kandaraki E, Chatzigeorgiou A, Livadas S, Palioura E, Economou F, Koutsilieris M, et al. Endocrine disruptors and polycystic ovary syndrome (PCOS): elevated serum levels of bisphenol A in women with PCOS. *J Clin Endocrinol Metab.* mars 2011;96(3):E480-484.
213. Tarantino G, Valentino R, Di Somma C, D'Esposito V, Passaretti F, Pizza G, et al. Bisphenol A in polycystic ovary syndrome and its association with liver-spleen axis. *Clin Endocrinol (Oxf).* mars 2013;78(3):447- 53.
214. Calafat AM, Weuve J, Ye X, Jia LT, Hu H, Ringer S, et al. Exposure to bisphenol A and other phenols in neonatal intensive care unit premature infants. *Environ Health Perspect.* avr 2009;117(4):639- 44.
215. Calafat AM, Ye X, Wong L-Y, Reidy JA, Needham LL. Exposure of the U.S. Population to Bisphenol A and 4-tertiary-Octylphenol: 2003–2004. *Environ Health Perspect.* janv 2008;116(1):39- 44.
216. Dekant W, Völkel W. Human exposure to bisphenol A by biomonitoring: methods, results and assessment of environmental exposures. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1 avr 2008;228(1):114- 34.
217. Fukata H, Miyagawa H, Yamazaki N, Mori C. Comparison of Elisa- and LC-MS-Based Methodologies for the Exposure Assessment of Bisphenol A. *Toxicol Mech Methods.* 2006;16(8):427- 30.
218. Ohkuma H, Abe K, Ito M, Kokado A, Kambegawa A, Maeda M. Development of a highly sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for bisphenol A in serum. *Analyst.* janv 2002;127(1):93- 7.
219. Atkinson JC, Diamond F, Eichmiller F, Selwitz R, Jones G. Stability of bisphenol A, triethylene-glycol dimethacrylate, and bisphenol A dimethacrylate in whole saliva. *Dent Mater.* mars 2002;18(2):128- 35.
220. Vandenberg LN, Colborn T, Hayes TB, Heindel JJ, Jacobs DR, Lee D-H, et al. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: low-dose effects and nonmonotonic dose responses. *Endocr Rev.* juin

Bibliographie

2012;33(3):378- 455.

221. Carwile JL, Luu HT, Bassett LS, Driscoll DA, Yuan C, Chang JY, et al. Polycarbonate bottle use and urinary bisphenol A concentrations. *Environ Health Perspect.* sept 2009;117(9):1368- 72.
222. Ye X, Pierik FH, Hauser R, Duty S, Angerer J, Park MM, et al. Urinary metabolite concentrations of organophosphorous pesticides, bisphenol A, and phthalates among pregnant women in Rotterdam, the Netherlands: the Generation R study. *Environ Res.* oct 2008;108(2):260- 7.
223. Schönfelder G, Wittfoht W, Hopp H, Talsness CE, Paul M, Chahoud I. Parent bisphenol A accumulation in the human maternal-fetal-placental unit. *Environ Health Perspect.* nov 2002;110(11):A703- 7.
224. Lagarde AR, Nagy K, Forgách T, Jánoki GA. Development of radioimmunoassay for the measurement of human leptin in serum. *Nucl Med Rev Cent East Eur.* 2003;6(2):105- 9.
225. Hahladakis JN, Velis CA, Weber R, Iacovidou E, Purnell P. An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. *Journal of Hazardous Materials.* févr 2018;344:179- 99.
226. Hansen E. Hazardous substances in plastic materials. COWI in cooperation with Danish Technological Institute; 2013 p. 151. Report No.: TA 3017 2013.
227. DeMatteo R. Exposition à des produits chimiques et production des matières plastiques : problèmes pour la santé des femmes | Une analyse documentaire. National Network on Environments and Women's Health; 2011.
228. Huang L-P, Lee C-C, Hsu P-C, Shih T-S. The association between semen quality in workers and the concentration of di(2-ethylhexyl) phthalate in polyvinyl chloride pellet plant air. *Fertility and Sterility.* juill 2011;96(1):90- 4.
229. Johnson MD, Kenney N, Stoica A, Hilakivi-Clarke L, Singh B, Chepko G, et al. Cadmium mimics the in vivo effects of estrogen in the uterus and mammary gland. *Nat Med.* août 2003;9(8):1081- 4.
230. Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon J-P, Giudice LC, Hauser R, Prins GS, Soto AM, et al. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev.* juin 2009;30(4):293- 342.
231. Pelch K, Wignall J, Goldstone A, Ross P, Blain R, Shapiro A, et al. NTP Research Report on Biological Activity of Bisphenol A (BPA) Structural Analogues and Functional Alternatives. NTP Research Report [Internet]. 2 nov 2017 [cité 27 déc 2019]; Disponible sur: <https://ntp.niehs.nih.gov/go/rr04abs>
232. Jin H, Zhu J, Chen Z, Hong Y, Cai Z. Occurrence and Partitioning of Bisphenol Analogues in Adults' Blood from China. *Environ Sci Technol.* 16 janv 2018;52(2):812- 20.
233. Chen D, Kannan K, Tan H, Zheng Z, Feng Y-L, Wu Y, et al. Bisphenol Analogues Other Than BPA: Environmental Occurrence, Human Exposure, and Toxicity—A Review. *Environ Sci Technol.* 7 juin 2016;50(11):5438- 53.
234. Asimakopoulos AG, Xue J, De Carvalho BP, Iyer A, Abualnaja KO, Yaghmoor SS, et al. Urinary biomarkers of exposure to 57 xenobiotics and its association with oxidative stress in a population in Jeddah, Saudi Arabia. *Environmental Research.* oct 2016;150:573- 81.

Bibliographie

235. Le Fol V, Aït-Aïssa S, Sonavane M, Porcher J-M, Balaguer P, Cravedi J-P, et al. In vitro and in vivo estrogenic activity of BPA, BPF and BPS in zebrafish-specific assays. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. août 2017;142:150- 6.
236. Eladak S, Grisin T, Moison D, Guerquin M-J, N'Tumba-Byn T, Pozzi-Gaudin S, et al. A new chapter in the bisphenol A story: bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound. *Fertility and Sterility*. janv 2015;103(1):11- 21.
237. Rosenmai AK, Dybdahl M, Pedersen M, Alice van Vugt-Lussenburg BM, Wedeby EB, Taxvig C, et al. Are Structural Analogues to Bisphenol A Safe Alternatives? *Toxicological Sciences*. 1 mai 2014;139(1):35- 47.
238. Viñas R, Watson CS. Bisphenol S Disrupts Estradiol-Induced Nongenomic Signaling in a Rat Pituitary Cell Line: Effects on Cell Functions. *Environmental Health Perspectives*. mars 2013;121(3):352- 8.
239. Gramec Skledar D, Peterlin Mašič L. Bisphenol A and its analogs: Do their metabolites have endocrine activity? *Environmental Toxicology and Pharmacology*. oct 2016;47:182- 99.
240. Huyghe E, Iazard V, Rigot JM, Pariente JL, Tostain, les membres du Comité d'androgénologie de l'Association Française d'Urologie (CCAFU) ; Évaluation de l'homme infertile : recommandations AFU 2007 [cité 27 déc 2019]. [Internet] Disponible sur : <https://www.urofrance.org/congres-et-formations/formation-initiale/referentiel-du-college/sterilite-du-couple.html>
241. Chaîne C. Fertilité de l'homme. [Internet] Docteur clic [cité 14 déc 2019]. Disponible sur <http://www.docteurclic.com/encyclopedie/fertilite>.
242. Young J. Infertilité masculine: mécanismes, causes et exploration. 2016;80:8.
243. Jaidane M, L'infertilité masculine. Rapport d'études cliniques. Service d'urologie de Sousse, 2015.
244. Mooradian AD, Morley JE, Korenman SG. Biological actions of androgens. *Endocr Rev*. févr 1987;8(1):1- 28.
245. Schulze C. Sertoli Cells and Leydig Cells in Man [Internet]. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 1984 [cité 14 déc 2019]. (*Advances in Anatomy, Embryology and Cell Biology*). Disponible sur: <https://www.springer.com/gp/book/9783540136033>
246. Nistal M, Paniagua R, Regadera J, Santamaria L, Amat P. A quantitative morphological study of human Leydig cells from birth to adulthood. *Cell Tissue Res*. 1986;246(2):229- 36.
247. Vierhapper H, Nowotny P, Waldhäusl W. Production rates of testosterone in patients with Cushing's syndrome. *Metabolism - Clinical and Experimental*. 1 févr 2000;49(2):229- 31.
248. Winters SJ, Clark BJ. Testosterone Synthesis, Transport, and Metabolism. In: Bagatell CJ, Bremner WJ, éditeurs. *Androgens in Health and Disease* [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2003 [cité 14 déc 2019]. p. 3- 22. (*Contemporary Endocrinology*). Disponible sur: https://doi.org/10.1007/978-1-59259-388-0_1
249. Rommerts FFG. Testosterone: an overview of biosynthesis, transport, metabolism and non-genomic actions [Internet]. *Testosterone: Action, Deficiency, Substitution*. 2004 [cité 14 déc 2019]. Disponible sur: </core/books/testosterone/testosterone-an-overview-of-biosynthesis-transport-metabolism-and-nongenomic-actions/C5D1801AFF2CF04A2B86FAB7ABB63728>

Bibliographie

250. Müller J, Skakkebaek NE. The prenatal and postnatal development of the testis. *Baillieres Clin Endocrinol Metab.* avr 1992;6(2):251- 71.
251. Saez JM. Leydig cells: endocrine, paracrine, and autocrine regulation. *Endocr Rev.* oct 1994;15(5):574- 626.
252. Shacham S, Harris D, Ben-Shlomo H, Cohen I, Bonfil D, Przeddecki F, et al. Mechanism of GnRH receptor signaling on gonadotropin release and gene expression in pituitary gonadotrophs. *Vitam Horm.* 2001;63:63- 90.
253. Orth J, Christensen AK. Localization of 125I-labeled FSH in the Testes of Hypophysectomized Rats by Autoradiography at the Light and Electron Microscope Levels. *Endocrinology.* 1 juill 1977;101(1):262- 78.
254. Santen RJ. Is aromatization of testosterone to estradiol required for inhibition of luteinizing hormone secretion in men? *J Clin Invest.* déc 1975;56(6):1555- 63.
255. Fontaine E, Jardin A. Physiologie des androgènes chez l'homme adulte [Internet]. 2018 [cité 14 déc 2019]. Disponible sur: <https://www.urofrance.org/base-bibliographique/physiologie-des-androgenes-chez-lhomme-adulte>
256. Bhasin G, Shalender F, et al. « Testosterone therapy in men with hypogonadism: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline ». *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 103, n° 5, mai 2018, p. 1715-44. *DOI.org (Crossref)*, doi:10.1210/jc.2018-00229.
257. Rosner W. Plasma steroid-binding proteins. *Endocrinol Metab Clin North Am.* déc 1991;20(4):697- 720.
258. Jardin A. La spermatogénèse [Internet]. 2018 [cité 14 déc 2019]. Disponible sur <http://www.embryology.ch/francais/cgametogen/spermato01.html>.
259. Fontaine E, Jardin A. Anomalies des organes génitaux internes masculins et retentissement sur la fertilité [Internet]. 2018 [cité 14 déc 2019]. Disponible sur: <https://www.urofrance.org/base-bibliographique/anomalies-des-organes-genitaux-internes-masculins-et-retentissement-sur-la>
260. Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS). Unité de Prévention du risque chimique (PRC) Classification et étiquetage harmonisés européen des substances chimiques cancérogènes, mutagènes et toxiques pour la reproduction selon les critères de CLP au 22 janvier 2011.
261. Liang H, Xu W, Chen J, Shi H, Zhu J, Liu X, et al. The Association between Exposure to Environmental Bisphenol A and Gonadotropic Hormone Levels among Men. *PLoS ONE* [Internet]. 2017 [cité 14 déc 2019];12(1). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5234835/>
262. Li D-K, Zhou Z, Miao M, He Y, Wang J, Ferber J, et al. Urine bisphenol-A (BPA) level in relation to semen quality. *Fertil Steril.* févr 2011;95(2):625-630.e1-4.
263. Meeker JD, Calafat AM, Hauser R. Urinary bisphenol A concentrations in relation to serum thyroid and reproductive hormone levels in men from an infertility clinic. *Environ Sci Technol.* 15 févr 2010;44(4):1458- 63.
264. Toppari J, Virtanen HE, Main KM, Skakkebaek NE. Cryptorchidism and hypospadias as a sign of testicular dysgenesis syndrome (TDS): environmental connection. *Birth Defects Res Part A Clin Mol Teratol.*

Bibliographie

oct 2010;88(10):910- 9.

265. Vidaeff AC, Sever LE. In utero exposure to environmental estrogens and male reproductive health: a systematic review of biological and epidemiologic evidence. *Reprod Toxicol.* juin 2005;20(1):5- 20.
266. Qin X-Y, Kojima Y, Mizuno K, Ueoka K, Muroya K, Miyado M, et al. Identification of novel low-dose bisphenol a targets in human foreskin fibroblast cells derived from hypospadias patients. *PLoS ONE.* 2012;7(5):e36711.
267. Dupouy S, Viardot-Foucault V, Alifano M, Souazé F, Plu-Bureau G, Chaouat M, et al. The neurotensin receptor-1 pathway contributes to human ductal breast cancer progression. *PLoS ONE.* 2009;4(1):e4223.
268. Mendiola J, Jørgensen N, Andersson A-M, Calafat AM, Ye X, Redmon JB, et al. Are environmental levels of bisphenol a associated with reproductive function in fertile men? *Environ Health Perspect.* sept 2010;118(9):1286- 91.
269. Li D-K, Zhou Z, Miao M, He Y, Qing D, Wu T, et al. Relationship Between Urine Bisphenol-A Level and Declining Male Sexual Function. *Journal of Andrology.* 1 sept 2010;31(5):500- 6.
270. Li D, Zhou Z, Qing D, He Y, Wu T, Miao M, et al. Occupational exposure to bisphenol-A (BPA) and the risk of self-reported male sexual dysfunction. *Hum Reprod.* févr 2010;25(2):519- 27.
271. Chitra KC, Latchoumycandane C, Mathur PP. Induction of oxidative stress by bisphenol A in the epididymal sperm of rats. *Toxicology.* 14 mars 2003;185(1):119- 27.
272. Herath CB, Jin W, Watanabe G, Arai K, Suzuki AK, Taya K. Adverse effects of environmental toxicants, octylphenol and bisphenol A, on male reproductive functions in pubertal rats. *Endocrine.* nov 2004;25(2):163- 72.
273. Hyoung U jun, Yang YJ, Kwon SK, Yoo JH, Myoung SC, Kim SC, et al. Developmental Toxicity by Exposure to Bisphenol A Diglycidyl Ether during Gestation and Lactation Period in Sprague-dawley Male Rats. *Journal of Preventive Medicine and Public Health.* 40(2):155- 61.
274. Kang D, Kwon S, Yang Y, Chun Y, Hong Y. Decreased of Clusterin mRNA Expression of Epididymis Following Exposure to Bisphenol A Diglycidyl Ether during Gestation and Lactation in Sprague-Dawley Rats. *Environmental Health and Toxicology.* déc 2008;23(4):291- 9.
275. Della Seta D, Minder I, Belloni V, Aloisi AM, Dessì-Fulgheri F, Farabollini F. Pubertal exposure to estrogenic chemicals affects behavior in juvenile and adult male rats. *Hormones and Behavior.* 1 août 2006;50(2):301- 7.
276. Yang Y, Lee S, Kim K, Hong Y. Acute Testis Toxicity of Bisphenol A Diglycidyl Ether in Sprague-Dawley Rats. *J Prev Med Public Health.* 2010;43(2):131.
277. Jin P, Wang X, Chang F, Bai Y, Li Y, Zhou R, et al. Low dose bisphenol A impairs spermatogenesis by suppressing reproductive hormone production and promoting germ cell apoptosis in adult rats. *J Biomed Res.* mars 2013;27(2):135- 44.
278. Castro B, Sánchez P, Torres JM, Preda O, Moral RG del, Ortega E. Bisphenol A Exposure during Adulthood Alters Expression of Aromatase and 5 α -Reductase Isozymes in Rat Prostate. *PLOS ONE.* 6 févr 2013;8(2):e55905.

Bibliographie

279. Sheng Z-G, Huang W, Liu Y-X, Zhu B-Z. Bisphenol A at a low concentration boosts mouse spermatogonial cell proliferation by inducing the G protein-coupled receptor 30 expression. *Toxicol Appl Pharmacol.* 15 févr 2013;267(1):88- 94.
280. Ndaw S, Remy A, Jargot D, Robert A. Occupational exposure of cashiers to Bisphenol A via thermal paper: urinary biomonitoring study. *Int Arch Occup Environ Health.* août 2016;89(6):935- 46.
281. Maduka I, Ezeonu, Ikekpeazu E, Maduka I. Urinary bisphenol-A output in plastic industry workers: A possible indicator of occupational exposure. *Trop J Med Res.* 2014;17(2):117.
282. Wang F, Hua J, Chen M, Xia Y, Zhang Q, Zhao R, et al. High urinary bisphenol A concentrations in workers and possible laboratory abnormalities. *Occup Environ Med.* sept 2012;69(9):679- 84.
283. Miao M, Yuan W, Yang F, Liang H, Zhou Z, Li R, et al. Associations between Bisphenol A Exposure and Reproductive Hormones among Female Workers. *IJERPH.* 22 oct 2015;12(10):13240- 50.
284. Liu X, Miao M, Zhou Z, Gao E, Chen J, Wang J, et al. Exposure to bisphenol-A and reproductive hormones among male adults. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* mars 2015;39(2):934- 41.
285. Zhuang W, Wu K, Wang Y, Zhu H, Deng Z, Peng L, et al. Association of serum bisphenol-A concentration and male reproductive function among exposed workers. *Arch Environ Contam Toxicol.* janv 2015;68(1):38- 45.
286. Zhou Q, Miao M, Ran M, Ding L, Bai L, Wu T, et al. Serum bisphenol-A concentration and sex hormone levels in men. *Fertil Steril.* août 2013;100(2):478- 82.
287. He Y, Miao M, Herrinton LJ, Wu C, Yuan W, Zhou Z, et al. Bisphenol A levels in blood and urine in a Chinese population and the personal factors affecting the levels. *Environ Res.* juill 2009;109(5):629- 33.
288. Hanaoka T. Urinary bisphenol A and plasma hormone concentrations in male workers exposed to bisphenol A diglycidyl ether and mixed organic solvents. *Occupational and Environmental Medicine.* 1 sept 2002;59(9):625- 8.
289. Vahedi M, Saeedi A, Poorbaghi SL, Sepehrimanesh M, Fattahi M. Metabolic and endocrine effects of bisphenol A exposure in market seller women with polycystic ovary syndrome. *Environ Sci Pollut Res Int.* déc 2016;23(23):23546- 50.
290. Kim S, Yang Y, Hong Y, Myung S-C, Kim S-C. Distribution of serum bisphenol A diglycidyl ether and its metabolite in Korean adult men and its association with reproductive hormone levels. *Mol Cell Toxicol.* 1 mars 2015;11(1):71- 8.
291. Xiao, G.B.; Shi, J.L.; He, G.H. Investigation into serum BPA and sex hormone level of workers in epoxy resin manufacture. *J. Environ. Occup. Med.* 2005, 22, 295–298.
292. Vogel AI, Tatchell AR, Furnis BS, Hannaford A, Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry, 5th ed., Hardcover, 1996, 1248–1249.
293. European Commission. European Union Risk Assessment Report. JRC Scientific and Technical Reports; 2008 févr p. 221. Report No.: 201-245- 8.
294. Cunha SC, Almeida C, Mendes E, Fernandes JO. Simultaneous determination of bisphenol A and

Bibliographie

- bisphenol B in beverages and powdered infant formula by dispersive liquid–liquid micro-extraction and heart-cutting multidimensional gas chromatography-mass spectrometry. *Food Additives & Contaminants: Part A*. avr 2011;28(4):513- 26.
295. De Coensel N, David F, Sandra P. Study on the migration of bisphenol-A from baby bottles by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-capillary GC-MS. *J Sep Sci*. nov 2009;32(21):3829- 36.
296. Deursen MM van. Novel concepts for fast capillary gas chromatography. 172 p.
297. Agilent Scientific Instruments. Capillary Flow Technology: Deans Switch. ncrease the resolving power of your GC. Agilent Technologies. A practical solution for increasing selectivity in complex matrices.
298. Poole CF. *the Essence of Chromatography*, Elsevier, 2003, 2–72.
299. Hornung RW, Reed LD. Estimation of Average Concentration in the Presence of Nondetectable Values. *Applied Occupational and Environmental Hygiene*. janv 1990;5(1):46- 51.
300. Dix D. Endocrine Disruptor Screening Program. :34.
301. Pillière F, Bouslama M. Perturbateurs endocriniens : contexte, dangers, sources d'exposition et prévention des risques en milieu professionnel. INRS; 2016 déc p. 19. Report No.: TC 156.
302. Ministère français du travail, de l'emploi, de la formation professionnelle et du dialogue social. Plan santé au travail 2016-2020. [Internet]. 2018 [cité 14 Jan 2020]. Disponible sur: <https://travail-emploi.gouv.fr/IMG/pdf/pst3.pdf>
303. Ministère français des solidarités et de la santé. Santé et environnement. 3e plan national 2015-2019. [Internet]. 2018 [cité 14 Jan 2020]. Disponible sur: <https://solidarites-sante.gouv.fr/sante-et-environnement/les-plans-nationaux-sante-environnement/article/plan-national-sante-environnement-pse3-2015-2019>
304. He Y, Miao M, Wu C, Yuan W, Gao E, Zhou Z, et al. Occupational Exposure Levels of Bisphenol A among Chinese Workers. *Jrnl of Occup Health*. sept 2009;51(5):432- 6.
305. Kouidhi W, Thannimalay L, Soon CS, Ali Mohd M. Occupational exposure to bisphenol A (BPA) in a plastic injection molding factory in Malaysia. *Int J Occup Med Environ Health* [Internet]. 31 mai 2017 [cité 13 janv 2020]; Disponible sur: <http://www.journalssystem.com/ijomeh/Occupational-exposure-to-bisphenol-A-BPA-in-a-plastic-injection-molding-factory-in-Malaysia,64610,0,2.html>
306. Huang YQ, Wong CKC, Zheng JS, Bouwman H, Barra R, Wahlström B, et al. Bisphenol A (BPA) in China: A review of sources, environmental levels, and potential human health impacts. *Environment International*. juill 2012;42:91- 9.
307. Zhang Z, Alomirah H, Cho H-S, Li Y-F, Liao C, Minh TB, et al. Urinary Bisphenol A Concentrations and Their Implications for Human Exposure in Several Asian Countries. *Environ Sci Technol*. 15 août 2011;45(16):7044- 50.
308. Migeot V, Dupuis A, Cariot A, Albouy-Llaty M, Pierre F, Rabouan S. Bisphenol A and Its Chlorinated Derivatives in Human Colostrum. *Environ Sci Technol*. 3 déc 2013;47(23):13791- 7.
309. Li X, Ying G-G, Zhao J-L, Chen Z-F, Lai H-J, Su H-C. 4-Nonylphenol, bisphenol-A and triclosan levels in

Bibliographie

- human urine of children and students in China, and the effects of drinking these bottled materials on the levels. *Environment International*. févr 2013;52:81- 6.
310. Xue J, Wu Q, Sakthivel S, Pavithran PV, Vasukutty JR, Kannan K. Urinary levels of endocrine-disrupting chemicals, including bisphenols, bisphenol A diglycidyl ethers, benzophenones, parabens, and triclosan in obese and non-obese Indian children. *Environmental Research*. févr 2015;137:120- 8.
311. Lehmler H-J, Liu B, Gadogbe M, Bao W. Exposure to Bisphenol A, Bisphenol F, and Bisphenol S in U.S. Adults and Children: The National Health and Nutrition Examination Survey 2013–2014. *ACS Omega*. 30 juin 2018;3(6):6523- 32.
312. Youssef M, El-Din E, AbuShady M, El-Baroudy N, Abd el hamid T, Armaneus A, et al. Urinary bisphenol A concentrations in relation to asthma in a sample of Egyptian children. *Hum Exp Toxicol*. nov 2018;37(11):1180- 6.
313. Gounden V, Zain Warasally M, Magwai T, Naidoo R, Chaturgoon A. A pilot study: Bisphenol–A and Bisphenol-A glucuronide levels in mother and child pairs in a South African population. *Reproductive Toxicology*. oct 2019;89:93- 9.
314. González N, Cunha SC, Monteiro C, Fernandes JO, Marquès M, Domingo JL, et al. Quantification of eight bisphenol analogues in blood and urine samples of workers in a hazardous waste incinerator. *Environmental Research*. sept 2019;176:108576.
315. Liao C, Kannan K. Concentrations and Profiles of Bisphenol A and Other Bisphenol Analogues in Foodstuffs from the United States and Their Implications for Human Exposure. *J Agric Food Chem*. 15 mai 2013;61(19):4655- 62.
316. Huang R, Liu Z, Yuan S, Yin H, Dang Z, Wu P. Worldwide human daily intakes of bisphenol A (BPA) estimated from global urinary concentration data (2000–2016) and its risk analysis. *Environmental Pollution*. nov 2017;230:143- 52.
317. Liao C, Liu F, Alomirah H, Loi VD, Mohd MA, Moon H-B, et al. Bisphenol S in Urine from the United States and Seven Asian Countries: Occurrence and Human Exposures. *Environ Sci Technol*. 19 juin 2012;46(12):6860- 6.
318. Siracusa JS, Yin L, Measel E, Liang S, Yu X. Effects of bisphenol A and its analogs on reproductive health: A mini review. *Reproductive Toxicology*. août 2018;79:96- 123.
319. Cabaton N, Chagnon M-C, Lhuguenot J-C, Cravedi J-P, Zalko D. Disposition and Metabolic Profiling of Bisphenol F in Pregnant and Nonpregnant Rats. *J Agric Food Chem*. déc 2006;54(26):10307- 14.
320. Stroheker T, Chagnon M-C, Pinnert M-F, Berges R, Canivenc-Lavier M-C. Estrogenic effects of food wrap packaging xenoestrogens and flavonoids in female Wistar rats: a comparative study. *Reproductive Toxicology*. juill 2003;17(4):421- 32.
321. Roelofs MJE, Berg M van den, Bovee TFH, Piersma AH, Duursen MBM van. Structural bisphenol analogues differentially target steroidogenesis in murine MA-10 Leydig cells as well as the glucocorticoid receptor. *Toxicology*. mars 2015;329:10- 20.
322. Yang Y, Guan J, Yin J, Shao B, Li H. Urinary levels of bisphenol analogues in residents living near a

Bibliographie

manufacturing plant in south China. *Chemosphere*. oct 2014;112:481- 6.

323. Feng Y, Yin J, Jiao Z, Shi J, Li M, Shao B. Bisphenol AF may cause testosterone reduction by directly affecting testis function in adult male rats. *Toxicology Letters*. juin 2012;211(2):201- 9.
324. LaKind JS, Naiman DQ. Daily intake of bisphenol A and potential sources of exposure: 2005–2006 National Health and Nutrition Examination Survey. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. mai 2011;21(3):272- 9.
325. Calafat AM, Kuklennyik Z, Reidy JA, Caudill SP, Ekong J, Needham LL. Urinary Concentrations of Bisphenol A and 4-Nonylphenol in a Human Reference Population. *Environmental Health Perspectives*. avr 2005;113(4):391- 5.
326. Delacour H, Servonnet A, Perrot A, Vigezzi JF, Ramirez JM. La courbe ROC (receiver operating characteristic) : principes et principales applications en biologie clinique. *Ann Biol Clin*. 2005;63:10.
327. Rim K-T. Reproductive Toxic Chemicals at Work and Efforts to Protect Workers' Health: A Literature Review. *Safety and Health at Work*. juin 2017;8(2):143- 50.
328. Heindel JJ, Blumberg B, Cave M, Machtiger R, Mantovani A, Mendez MA, et al. Metabolism disrupting chemicals and metabolic disorders. *Reproductive Toxicology*. mars 2017;68:3- 33.
329. Chevrier J, Gunier RB, Bradman A, Holland NT, Calafat AM, Eskenazi B, et al. Maternal Urinary Bisphenol A during Pregnancy and Maternal and Neonatal Thyroid Function in the CHAMACOS Study. *Environmental Health Perspectives*. janv 2013;121(1):138- 44.
330. Fujimoto VY, Kim D, vom Saal FS, Lamb JD, Taylor JA, Bloom MS. Serum unconjugated bisphenol A concentrations in women may adversely influence oocyte quality during in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*. avr 2011;95(5):1816- 9.
331. Galloway T, Cipelli R, Guralnik J, Ferrucci L, Bandinelli S, Corsi AM, et al. Daily Bisphenol A Excretion and Associations with Sex Hormone Concentrations: Results from the InCHIANTI Adult Population Study. *Environ Health Perspect*. nov 2010;118(11):1603- 8.
332. Takeuchi T, Tsutsumi O. Serum Bisphenol A Concentrations Showed Gender Differences, Possibly Linked to Androgen Levels. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. févr 2002;291(1):76- 8.
333. Rees Clayton EM, Todd M, Dowd JB, Aiello AE. The Impact of Bisphenol A and Triclosan on Immune Parameters in the U.S. Population, NHANES 2003–2006. *Environmental Health Perspectives*. mars 2011;119(3):390- 6.
334. Brent RL. Bisphenol A and Obesity in Children and Adolescents. *JAMA*. 9 janv 2013;309(2):134.
335. Li M, Bi Y, Qi L, Wang T, Xu M, Huang Y, et al. Exposure to bisphenol A is associated with low-grade albuminuria in Chinese adults. *Kidney International*. juin 2012;81(11):1131- 9.
336. Ben-Jonathan N, Hugo ER, Brandebourg TD. Effects of bisphenol A on adipokine release from human adipose tissue: Implications for the metabolic syndrome. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 25 mai 2009;304(1- 2):49- 54.
337. Nahar MS, Soliman AS, Colacino JA, Calafat AM, Battige K, Hablas A, et al. Urinary bisphenol A concentrations in girls from rural and urban Egypt: a pilot study. *Environ Health*. déc 2012;11(1):20.

Bibliographie

338. Löfroth M, Ghasemimehr M, Falk A, Vult von Steyern P. Bisphenol A in dental materials – existence, leakage and biological effects. *Heliyon*. mai 2019;5(5):e01711.
339. Fleisch AF, Sheffield PE, Chinn C, Edelstein BL, Landrigan PJ. Bisphenol A and Related Compounds in Dental Materials. *PEDIATRICS*. 1 oct 2010;126(4):760- 8.
340. Chung S-Y, Kwon H, Choi Y-H, Karmaus W, Merchant AT, Song K-B, et al. Dental composite fillings and bisphenol A among children: a survey in South Korea: BPA from dental composites in children. *International Dental Journal*. avr 2012;62(2):65- 9.
341. Sasaki N, Okuda K, Kato T, Kakishima H, Okuma H, Abe K, et al. Salivary bisphenol-A levels detected by ELISA after restoration with composite resin. *J Mater Sci: Mater Med*. avr 2005;16(4):297- 300.
342. Maserejian NN, Trachtenberg FL, Hauser R, McKinlay S, Shrader P, Tavares M, et al. Dental composite restorations and psychosocial function in children. *Pediatrics*. août 2012;130(2):e328-338.
343. Maserejian NN, Hauser R, Tavares M, Trachtenberg FL, Shrader P, McKinlay S. Dental Composites and Amalgam and Physical Development in Children. *J Dent Res*. nov 2012;91(11):1019- 25.
344. Hong Y-C, Park E-Y, Park M-S, Ko JA, Oh S-Y, Kim H, et al. Community level exposure to chemicals and oxidative stress in adult population. *Toxicology Letters*. janv 2009;184(2):139- 44.
345. Mullainadhan V, Viswanathan MP, Karundevi B. Effect of Bisphenol-A (BPA) on insulin signal transduction and GLUT4 translocation in gastrocnemius muscle of adult male albino rat. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. sept 2017;90:38- 47.
346. Sivashanmugam P, Mullainadhan V, Karundevi B. Dose-dependent effect of Bisphenol-A on insulin signaling molecules in cardiac muscle of adult male rat. *Chemico-Biological Interactions*. mars 2017;266:10- 6.
347. Weldingh NM, Jørgensen-Kaur L, Becher R, Holme JA, Bodin J, Nygaard UC, et al. Bisphenol A Is More Potent than Phthalate Metabolites in Reducing Pancreatic β -Cell Function. *BioMed Research International*. 2017;2017:1- 11.
348. Khalil N, Ebert JR, Wang L, Belcher S, Lee M, Czerwinski SA, et al. Bisphenol A and cardiometabolic risk factors in obese children. *Science of The Total Environment*. févr 2014;470- 471:726- 32.
349. Finkelstein JS, O’Dea LS, Whitcomb RW, Crowley WF. Sex steroid control of gonadotropin secretion in the human male. II. Effects of estradiol administration in normal and gonadotropin-releasing hormone-deficient men. *J Clin Endocrinol Metab*. sept 1991;73(3):621- 8.
350. Lassen TH, Frederiksen H, Jensen TK, Petersen JH, Joensen UN, Main KM, et al. Urinary bisphenol A levels in young men: association with reproductive hormones and semen quality. *Environ Health Perspect*. mai 2014;122(5):478- 84.
351. Akingbemi BT, Sottas CM, Koulova AI, Klinefelter GR, Hardy MP. Inhibition of testicular steroidogenesis by the xenoestrogen bisphenol A is associated with reduced pituitary luteinizing hormone secretion and decreased steroidogenic enzyme gene expression in rat Leydig cells. *Endocrinology*. févr 2004;145(2):592- 603.
352. Bremner WJ, Vitiello MV, Prinz PN. Loss of circadian rhythmicity in blood testosterone levels with

Bibliographie

aging in normal men. *J Clin Endocrinol Metab.* juin 1983;56(6):1278- 81.

353. Kortenkamp A. Low dose mixture effects of endocrine disrupters: implications for risk assessment and epidemiology. *Int J Androl.* avr 2008;31(2):233- 40.

354. Youn J-Y, Park H-Y, Lee J-W, Jung I-O, Choi K-H, Kim K, et al. Evaluation of the immune response following exposure of mice to bisphenol A: induction of Th1 cytokine and prolactin by BPA exposure in the mouse spleen cells. *Arch Pharm Res.* déc 2002;25(6):946- 53.

355. Stoker TE, Robinette CL, Britt BH, Laws SC, Cooper RL. Prepubertal exposure to compounds that increase prolactin secretion in the male rat: effects on the adult prostate. *Biol Reprod.* déc 1999;61(6):1636- 43.

356. Tohei A, Suda S, Taya K, Hashimoto T, Kogo H. Bisphenol A inhibits testicular functions and increases luteinizing hormone secretion in adult male rats. *Exp Biol Med (Maywood).* mars 2001;226(3):216- 21.

357. Watters JJ, Chun TY, Kim YN, Bertics PJ, Gorski J. Estrogen modulation of prolactin gene expression requires an intact mitogen-activated protein kinase signal transduction pathway in cultured rat pituitary cells. *Mol Endocrinol.* nov 2000;14(11):1872- 81.

358. Anawalt BD, Bebb RA, Matsumoto AM, Groome NP, Illingworth PJ, McNeilly AS, et al. Serum inhibin B levels reflect Sertoli cell function in normal men and men with testicular dysfunction. *J Clin Endocrinol Metab.* sept 1996;81(9):3341- 5.

359. Kumanov P, Nandipati K, Tomova A, Agarwal A. Inhibin B is a better marker of spermatogenesis than other hormones in the evaluation of male factor infertility. *Fertil Steril.* août 2006;86(2):332- 8.

360. Zhang T, Sun H, Kannan K. Blood and Urinary Bisphenol A Concentrations in Children, Adults, and Pregnant Women from China: Partitioning between Blood and Urine and Maternal and Fetal Cord Blood. *Environ Sci Technol.* 7 mai 2013;47(9):4686- 94.

361. Fujimoto Y, Sakuma S, Nishiwaki Y, Ikeda M, Fujita T. Effects of endocrine disruptors on arachidonic acid metabolism in rabbit platelets. *Toxicology and Applied Pharmacology.* juin 2003;189(2):96- 9.

362. Abdulmajeed AA, Kokkari AK, Käpylä J, Massera J, Hupa L, Vallittu PK, et al. In vitro blood and fibroblast responses to BisGMA-TEGDMA/bioactive glass composite implants. *J Mater Sci Mater Med.* janv 2014;25(1):151- 62.

363. Balistrieri A, Hobohm L, Srivastava T, Meier A, Corriden R. Alterations in human neutrophil function caused by bisphenol A. *American Journal of Physiology-Cell Physiology.* 1 nov 2018;315(5):C636- 42.

364. Meeker JD, Ehrlich S, Toth TL, Wright DL, Calafat AM, Trisini AT, et al. Semen quality and sperm DNA damage in relation to urinary bisphenol A among men from an infertility clinic☆☆☆. *Reproductive Toxicology.* déc 2010;30(4):532- 9.

365. Morck HI, Winkel P, Gyntelberg F. Health effects of toluene exposure. *Dan Med Bull* 1988;35:196– 200.

366. Eng DS, Lee JM, Gebremariam A, Meeker JD, Peterson K, Padmanabhan V. Bisphenol A and Chronic Disease Risk Factors in US Children. *PEDIATRICS.* 1 sept 2013;132(3):e637- 45.

Bibliographie

367. Bhandari R, Xiao J, Shankar A. Urinary Bisphenol A and Obesity in US Children. *American Journal of Epidemiology*. 1 juin 2013;177(11):1263- 70.
368. Honma S, Suzuki A, Buchanan DL, Katsu Y, Watanabe H, Iguchi T. Low dose effect of in utero exposure to bisphenol A and diethylstilbestrol on female mouse reproduction. *Reproductive Toxicology*. mars 2002;16(2):117- 22.
369. Vom Saal FS, Nagel SC, Coe BL, Angle BM, Taylor JA. The estrogenic endocrine disrupting chemical bisphenol A (BPA) and obesity. *Mol Cell Endocrinol*. 6 mai 2012;354(1- 2):74- 84.
370. Wang B, Wang S, Zhao Z, Chen Y, Xu Y, Li M, et al. Bisphenol A exposure in relation to altered lipid profile and dyslipidemia among Chinese adults: A repeated measures study. *Environmental Research*. mai 2020;184:109382.
371. Li R, Yang S, Gao R, Deng Y, Liu J, Yuan C, et al. Relationship between the environmental endocrine disruptor bisphenol a and dyslipidemia: A FIVE-YEAR PROSPECTIVE STUDY. *Endocrine Practice*. avr 2020;26(4):399- 406.
372. Spielmann H, Vogel R. The extended 1-generation study (OECD 415), as a replacement of the mammalian 2-generation study (OECD 416). :5.
373. Tayama S, Nakagawa Y, Tayama K. Genotoxic effects of environmental estrogen-like compounds in CHO-K1 cells. *Mutat Res*. 8 janv 2008;649(1- 2):114- 25.
374. Wetherill YB, Fisher NL, Staubach A, Danielsen M, de Vere White RW, Knudsen KE. Xenoestrogen action in prostate cancer: pleiotropic effects dependent on androgen receptor status. *Cancer Res*. 1 janv 2005;65(1):54- 65.
375. Kazemi S, Feizi F, Aghapour F, Joorsaraee GA, Moghadamnia AA. Histopathology and Histomorphometric Investigation of Bisphenol A and Nonylphenol on the Male Rat Reproductive System. *N Am J Med Sci*. mai 2016;8(5):215- 21.
376. Takahashi O, Oishi S. Testicular toxicity of dietary 2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane (bisphenol A) in F344 rats. *Arch Toxicol*. mars 2001;75(1):42- 51.
377. Yousaf B, Null A, Liu G, Wang R, Qadir A, Ali MU, et al. Bisphenol A exposure and healing effects of *Adiantum capillus-veneris* L. plant extract (APE) in bisphenol A-induced reproductive toxicity in albino rats. *Environ Sci Pollut Res Int*. juin 2016;23(12):11645- 57.
378. Salian S, Doshi T, Vanage G. Perinatal exposure of rats to Bisphenol A affects the fertility of male offspring. *Life Sci*. 18 nov 2009;85(21- 22):742- 52.
379. Bolli A, Bulzomi P, Galluzzo P, Acconcia F, Marino M. Bisphenol A impairs estradiol-induced protective effects against DLD-1 colon cancer cell growth. *IUBMB Life*. sept 2010;62(9):684- 7.
380. Ptak A, Wróbel A, Gregoraszczyk EL. Effect of bisphenol-A on the expression of selected genes involved in cell cycle and apoptosis in the OVCAR-3 cell line. *Toxicol Lett*. 10 avr 2011;202(1):30- 5.
381. Benachour N, Aris A. Toxic effects of low doses of Bisphenol-A on human placental cells. *Toxicol Appl Pharmacol*. 15 déc 2009;241(3):322- 8.

Bibliographie

382. Center of Disease Control and Prevention (CDC). National Biomonitoring Program. [Internet]. [cité 13 déc 2019]. Disponible sur: <https://www.cdc.gov/biomonitoring/index.html>
383. Kabuto H, Amakawa M, Shishibori T. Exposure to bisphenol A during embryonic/fetal life and infancy increases oxidative injury and causes underdevelopment of the brain and testis in mice. *Life Sci.* 30 avr 2004;74(24):2931- 40.
384. Al-Hiyasat AS, Darmani H, Elbetieha AM. Effects of bisphenol A on adult male mouse fertility. *Eur J Oral Sci.* avr 2002;110(2):163- 7.
385. Okada A, Kai O. Effects of estradiol-17beta and bisphenol A administered chronically to mice throughout pregnancy and lactation on the male pups' reproductive system. *Asian J Androl.* mars 2008;10(2):271- 6.
386. Saal FSV, Cooke PS, Buchanan DL, Palanza P, Thayer KA, Nagel SC, et al. A Physiologically Based Approach To the Study of Bisphenol a and Other Estrogenic Chemicals On the Size of Reproductive Organs, Daily Sperm Production, and Behavior: Toxicology and Industrial Health [Internet]. 30 juin 2016 [cité 12 déc 2019]; Disponible sur: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/074823379801400115>
387. Kim HS, Han SY, Kim TS, Kwack SJ, Lee RD, Kim IY, et al. No androgenic/anti-androgenic effects of bisphenol-A in Hershberger assay using immature castrated rats. *Toxicology Letters.* 5 sept 2002;135(1):111- 23.
388. Timms BG, Howdeshell KL, Barton L, Bradley S, Richter CA, vom Saal FS. Estrogenic chemicals in plastic and oral contraceptives disrupt development of the fetal mouse prostate and urethra. *Proc Natl Acad Sci USA.* 10 mai 2005;102(19):7014- 9.
389. Ramos JG, Varayoud J, Kass L, Rodríguez H, Costabel L, Muñoz-De-Toro M, et al. Bisphenol a induces both transient and permanent histofunctional alterations of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in prenatally exposed male rats. *Endocrinology.* juill 2003;144(7):3206- 15.
390. Tyl RW, Myers CB, Marr MC, Sloan CS, Castillo NP, Veselica MM, et al. Two-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD-1 (Swiss) mice. *Toxicol Sci.* août 2008;104(2):362- 84.
391. Ashby J, Tinwell H, Lefevre PA, Joiner R, Haseman J. The Effect on Sperm Production in Adult Sprague-Dawley Rats Exposed by Gavage to Bisphenol A between Postnatal Days 91–97. *Toxicol Sci.* 1 juill 2003;74(1):129- 38.
392. Chen F, Zhou L, Bai Y, Zhou R, Chen L. Sex differences in the adult HPA axis and affective behaviors are altered by perinatal exposure to a low dose of bisphenol A. *Brain Res.* 7 juill 2014;1571:12- 24.
393. Xu X, Dong F, Yang Y, Wang Y, Wang R, Shen X. Sex-specific effects of long-term exposure to bisphenol-A on anxiety- and depression-like behaviors in adult mice. *Chemosphere.* 1 févr 2015;120:258- 66.
394. Jahan S, Ain QU, Ullah H. Therapeutic effects of quercetin against bisphenol A induced testicular damage in male Sprague Dawley rats. *Systems Biology in Reproductive Medicine.* 3 mars 2016;62(2):114- 24.
395. Chouhan S, Yadav SK, Prakash J, Westfall S, Ghosh A, Agarwal NK, et al. Increase in the expression of inducible nitric oxide synthase on exposure to bisphenol A: A possible cause for decline in steroidogenesis in male mice. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 1 janv 2015;39(1):405- 16.

Bibliographie

396. Yu-hua L, Yang F., Zhou X, Hong-jie P, Yang LI, Runsheng LI. Journal of reproduction and contraception. China ; 2015.
397. Kato H, Furuhashi T, Tanaka M, Katsu Y, Watanabe H, Ohta Y, et al. Effects of bisphenol A given neonatally on reproductive functions of male rats. *Reproductive Toxicology*. 1 juill 2006;22(1):20-9.
398. Montévil M, Acevedo N, Schaeberle C, Bharadwaj M, Fenton S, Soto A. A combined morphometric and statistical approach to assess non monotonicity in the developing mammary gland of rats in the CLARITY-BPA Study. *Environmental Health Perspectives*, mai 2020; 128(5):0570001.

ANNEXES

Annexe 1 : Déclaration de conformité aux règles d'éthique

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de la Santé et de la Reforme Hospitalière
Centre Hospitalo-Universitaire Dr Benbadis Constantine
Conseil Scientifique du CHUC



ATTESTATION

- Je soussigné, **Pr Kaddour Benlabeled**, Président du Conseil Scientifique du CHU de Constantine, atteste que le projet de thèse du **Dr Rebai Imene** intitulé : « Niveaux d'exposition au bisphénol A chez les employés d'une entreprise de matières plastiques et chez des sujets non exposés, recherche d'un impact sur la fertilité masculine. », est antérieur à la création du comité d'Éthique du CHUC.

De ce fait, la candidate a été orientée vers les institutions universitaires.

Le Président du Conseil Scientifique du CHUC

رئيس المجلس العلمي
المستشفى الجامعي بن باديس
الاستاذ : بن العابد قسود

Annexe 1 : Déclaration de conformité aux règles d'éthique

République Algérienne démocratique et populaire
Université Salah Boubnider Constantine 3
Faculté de Médecine
Département de Pharmacie
Comité scientifique du département et de la recherche scientifique

Réf CS /CE/01/19

Constantine, le 10 Décembre 2019

Attestation de conformité

Je sous signé le **Pr Laouar**, président du comité scientifique du département de Pharmacie de Constantine, après expertise du projet de recherche du Dr. Rebai iméne, intitulé : Niveaux d'exposition de travailleurs de l'industrie plastique au bisphénol A. Recherche d'un impact sur la santé humaine, déclare ce projet conforme aux règles d'éthiques médicales de la faculté de Médecine de Constantine.

Cette attestation peut faire valoir le travail pour des publications ou productions scientifiques.

Président du comité scientifique

(Pr. LAOUAR. H
Président du Comité
Scientifique de Pharmacie

**Annexe 2 : Fiche de renseignements médicaux et professionnels accompagnant l'échantillon
dans le cadre de la biométrieologie du BPA**

+

VOLET A REMPLIR PAR LE MEDECIN OU L'INFIRMIER ERE			
Type d'analyse à effectuer			
N°= de l'échantillon :			
Milieu biologique collecté :			
Agent chimique concerné :			
Entreprise du lieu d'exposition			
Nom de l'entreprise :			
Nom de responsable :			
Adresse :			
Secteur d'activité :			
Prescripteur de la surveillance biologique			
Nom du Médecin du travail :			
Nom de service de santé au travail :			
Adresse :			
Téléphone :			
Identification du préleveur de l'échantillon			
Nom du préleveur :			
Qualité du préleveur :			
Téléphone :			
Recueil et transport de l'échantillon			
Date du prélèvement :/...../.....		Heure du prélèvement :H.....	
Date d'envoi au laboratoire :/...../.....			
Moment de prélèvement dans la journée		<input type="checkbox"/> Début	<input type="checkbox"/> Fin de poste
Moment de prélèvement dans la semaine		<input type="checkbox"/> Début	<input type="checkbox"/> Fin de semaine
Nature du prélèvement (matrice biologique et matériels utilisés) :			
Mode de stockage :		<input type="checkbox"/> Température ambiante	<input type="checkbox"/> 4°C <input type="checkbox"/> -20°C <input type="checkbox"/>
Renseignements individuels			
Nom :			
Prénom :			
Sexe : <input type="checkbox"/> féminin <input type="checkbox"/> masculin		Date de naissance :/...../.....	
Poids.....		Taille.....IMC.....	
Lieu d'habitation.....		Situation familiale.....	
Nombre d'enfants :		Santé de l'enfant :	
Particularités de la vie sexuelle /Conception			
Antécédent médicaux et biologiques :			
Médication (traitement).....			
Consommation d'alcool.....			
Tabagisme <input type="checkbox"/> Fumeur <input type="checkbox"/> Non-fumeur		<input type="checkbox"/> Ex-fumeur	
Nombre de cigarettes fumées dans les 24 heures avant le prélèvement :			
Alimentation au poste de travail <input type="checkbox"/> Oui		<input type="checkbox"/> Non	
Exposition extra-professionnelle (alimentation, dispositifs médicaux, loisirs) :			
Pause récente de composite dentaire :			

**Annexe 2 : Fiche de renseignements médicaux et professionnels accompagnant l'échantillon
dans le cadre de la biométrie du BPA**

VOLET A REMPLIR PAR LE MEDECIN OU L INFERMIER ERE	
Activité professionnelle	
Description et durée des tâches effectuées :.....	
Nature du poste de travail :.....	
Nombre d'années d'ancienneté :.....	
Produit(s) utilisé(s) (nature chimique).....	
Horaire de travail : Début de posteH..... Fin de poste.....H.....	
Moyens de protection collective utilisés le jour du prélèvement	
Protection collective :	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
Type de protection :	<input type="checkbox"/> Aspiration, extraction, ventilation générale <input type="checkbox"/> Cabine, machine capotée, rideau d'eau ou d'air <input type="checkbox"/> Aspiration à la source <input type="checkbox"/> Sorbonne, hotte, boîte à gants
Vérification récente de son efficacité :	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
Moyens de protection individuelle utilisés le jour du prélèvement	
Masque respiratoire :	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
Etat :	<input type="checkbox"/> Neuf <input type="checkbox"/> Usagé
Gants :	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
Etat :	<input type="checkbox"/> Neuf <input type="checkbox"/> Usagé
Vêtement de travail :	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
Changé ce jour :	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non

Nom et Prénom : REBAI Iméne

Titre : Niveaux d'exposition au bisphénol A chez les employés d'une entreprise de matières plastiques et chez des sujets non exposés. Recherche d'un impact sur la fertilité masculine.

Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat En Sciences Médicales en Toxicologie

RESUME

Objectif : Les perturbations endocriniennes de type reproductif augmentent de façon alarmante à travers le monde. La société algérienne de fertilité et de contraception indique que l'infertilité, en Algérie, est en nette augmentation puisqu'elle passe de 15 % à 20 %. Aujourd'hui, les conclusions scientifiques selon lesquelles l'exposition aux molécules PE et plus particulièrement le bisphénol A (BPA), convergent toutes sur l'implication, de façon sûre, de ces molécules au développement de problèmes d'infertilité.

Le travail a porté sur deux études, une étude épidémiologique et une étude expérimentale. L'étude épidémiologique avait pour objectif, l'évaluation du niveau d'exposition au BPA chez des travailleurs de l'industrie du plastique, ainsi que la recherche d'association entre les niveaux de BPA et l'impact sur la santé reproductive des sujets. L'étude expérimentale avait pour objectif d'évaluer les effets de l'exposition au BPA, sur les performances de reproduction, chez des souris swiss mâles.

Méthodes : L'étude épidémiologique a été menée, principalement, auprès de 170 employés dans une industrie du plastique, située dans la région du Constantinois. Un questionnaire a été adressé à chacun des sujets en vue de collecter diverses informations sociodémographiques et professionnelles. Un prélèvement sanguin et urinaire a été effectué, destiné à la détermination des paramètres biologiques (sang) et des taux de BPA (urine). La détermination du BPA urinaire total (conjugué + libre) a été réalisée par une méthode DLLME/GC-MS validée. Un traitement statistique a été appliqué aux données, afin de déterminer les associations entre les taux urinaires du BPA total et les taux hormonaux. De même qu'a été approché le risque de survenue de perturbations biologiques chez les travailleurs exposés.

L'étude expérimentale a porté sur quatre groupes de souris adultes mâles, auxquels ont été administrées, respectivement, quatre doses : 25, 50, 500 et 1000 µg/kg/j de BPA. Après administration quotidienne, pendant 30 jours, les souris ont été accouplées à des femelles adultes, non traitées au BPA. La dissection des souris a permis de déterminer le poids et l'histologie des organes reproducteurs mâles ainsi que les points d'implantation chez les souris femelles.

Résultats : Les résultats de l'étude épidémiologique ont montré, chez les travailleurs, un niveau d'exposition au BPA, suffisamment élevé pour se préoccuper du risque qu'engendrerait le BPA sur la santé (taux moyens de $3,24 \pm 4,66$ µg/L). Il existe une corrélation significative entre les taux de BPA et l'âge des travailleurs ($p=0,02$). Des différences significatives, entre les travailleurs exposés et la population témoin, ont été notées pour les taux de l'hormone folliculostimulante (FSH), de glycémie, de triglycérides et de plaquettes sanguines. Le risque d'apparition de troubles de la fertilité ainsi que de troubles hormonaux, est notable. Il est rapporté un lien entre les taux urinaires de BPA et les années de travail ainsi que la nature des postes occupés dans l'industrie du plastique.

Les résultats expérimentaux ont mis en évidence, chez les souris exposées, une diminution du poids corporel, du poids des testicules et de l'épididyme ainsi qu'une augmentation du poids de la prostate ventrale et des vésicules séminales. Les observations étaient très explicites dans les lots exposés à 500 et 1000 µg/kg/j. L'histologie des testicules et des vésicules séminales est revenue altérée avec une dystrophie des tubes séminifères et une hyperplasie de l'épithélium glandulaire des vésicules séminales.

Conclusion : L'exposition professionnelle et environnementale au BPA est associée à un réel risque sanitaire. Les résultats de l'étude incitent à promouvoir des mesures préventives et à adapter, à la réalité du terrain, la législation traitant de l'exposition humaine, notamment, celle émanant de la multitude de produits susceptibles de renfermer du BPA.

Mots clés : Perturbateur endocrinien, bisphénol A, exposition humaine, fertilité masculine, santé au travail

Directeur de thèse : AZZOUZ Mohamed – Université d'Alger 1

Année universitaire : 2019-2020