

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Caractérisation des dangers et des expositions du 4-nonylphénol

Avis de l'Anses

Rapports d'expertise collective

Décembre 2015

Édition scientifique

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Caractérisation des dangers et des expositions du 4-nonylphénol

Avis de l'Anses

Rapports d'expertise collective

Décembre 2015

Édition scientifique

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 10 décembre 2015

AVIS

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

**relatif à la caractérisation des dangers et des expositions du
4-chloro-3-méthylphénol ou *p*-chlorocrésol (n° CAS 59-50-7), 4-nitrophénol (n° CAS 100-02-7), 4-*tert*-octylphénol (n° CAS 140-66-9), DEGME (ou 2-(2-méthoxyéthoxy)ethanol) (n° CAS 11-77-3), 4-*tert*-butylphénol (n° CAS 98-54-4), 4-nonylphénol (n° CAS 104-40-5)**

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

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

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

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

Ses avis sont rendus publics.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

L'Agence a été saisie le 9 juin 2009 par la Direction générale de la santé (DGS) afin d'effectuer une évaluation des risques sanitaires (ERS) liés à l'exposition à des substances reprotoxiques de catégorie 2 (R2) (selon la directive 67/548/CE)¹ et/ou perturbatrices endocriniennes (PE) présentes dans des produits de consommation mis sur le marché en France.

Cette expertise visait la population générale, incluant les populations vulnérables, et les personnes en milieu de travail manipulant des produits de consommation dits «grand public» du fait de leur activité professionnelle (hors fabrication, transformation, distribution et élimination). Une liste d'une trentaine de substances chimiques reprotoxiques de catégorie 2 (selon le Règlement (CE) No 1272/2008 dit CLP)² et/ou PE susceptibles d'être présentes dans des mélanges et/ou articles mis sur le marché à destination du public a été annexé à la saisine. Cette liste incluait des dérivés phénoliques, des éthers de glycol, le toluène, le n-hexane ainsi que des bisphénols, phtalates, perfluorés, polybromés, etc...

¹ Directive n° 67/548/CEE du 27/06/67 concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses

² Règlement (CE) No 1272/2008 du Parlement européen et du Conseil 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges. Ce règlement se substitue à partir de 2015 à la directive susmentionnée et à la directive 1999/45/CE.

Une première liste de 12 substances susceptibles d'être retrouvées dans des mélanges à usage grand public (vernis, colles, peintures, etc.) a été évaluée par l'Anses. Parmi ces substances, le chloroacétamide (n° CAS 79-07-2), ayant entre temps, fait l'objet d'une interdiction par voie réglementaire pour les usages entrant dans le champ de la saisine, a été écarté de la liste des substances soumises à l'expertise de l'Agence.

S'agissant de cinq d'entre elles, l'Agence a publié en mai 2014 un rapport d'expertise collective relatif à l'évaluation des risques sanitaires liés à la présence d'o-phénylphénol (OPP), de toluène, de n-hexane, de chlorure de *cis*-1-(3-chloroallyl)-3,5,7-triaza-1-azonia adamantane (*cis*-CTAC) et de méthyl-*tert*-butyléther (MTBE) dans les produits de consommation. Le rapport comporte, outre les conclusions sur l'évaluation des risques substance par substance, des fiches complètes sur les expositions (usages, filières, estimation des expositions) et les dangers. Dans les cas jugés pertinents par les experts, les risques pour les professionnels amenés à utiliser ces produits en milieu de travail ont également été évalués, comme prévu dans la saisine de la DGS.

Le présent avis présente les résultats de l'expertise portant sur les six substances restantes de la liste : 4-chloro-3-méthylphénol ou *p*-chlorocrésol (n° CAS 59-50-7), 4-nitrophénol (n° CAS 100-02-7), 4-*tert*-octylphénol (n° CAS 140-66-9), DEGME (ou 2-(2-méthoxyéthoxy)éthanol) (n° CAS 11-77-3), 4-*tert*-butylphénol (n° CAS 98-54-4), 4-nonylphénol (n° CAS 104-40-5).

Le tableau 1 présente les réglementations applicables à ces substances.

Avis de l'Anses
Saisine n° «2009-SA-0331»

Tableau 1 : Cadre réglementaire et classification PE appliqués aux six substances chimiques

Substance	N°CAS	REACH - règlement (CE) n° 1907/2006	CLP - règlement (CE) n°1272/2008 Dont Classification CMR	Réglementation BIOCIDES - règlement (UE) n°528/2012	Réglementation MCDA	Autres réglementations ³	Classement PE
4-chloro-3-méthylphénol ou <i>p</i> -chlorocrésol	59-50-7		Acute tox.4 H302 Acute tox.4 H312 Skin Sens1, H317 Eye Dam.1 H318 Aquatic Acute 1. H400 (CLP00) ⁶	<i>p</i> -chlorocrésol doit faire l'objet d'une évaluation pour : TP 1 : Produits biocides destinés à l'hygiène humaine TP 2 : Désinfectants et produits algicides non destinés à l'application directe sur des êtres humains ou des animaux TP 3 : Produits biocides destinés à l'hygiène vétérinaire TP 6 : Protection des produits pendant le stockage TP 9 : Produits de protection des fibres, du cuir, du caoutchouc et des matériaux polymérisés TP 13 : Produits de protection des fluides de travail ou de coupe	Non concerné	Règlement (CE) n° 68/2004 relatif aux détergents : En tant qu'agent conservateur, le chlorocrésol doit être inscrit sur l'étiquetage quelle que soit sa concentration. Règlement (CE) n° 1107/2009 relatif aux produits phytopharmaceutiques : chlorocrésol non inclus comme substance active, donc tout produit phytopharmaceutique contenant du <i>p</i> -chlorocrésol doit être retiré du marché	PE2 (BKH, 2002 et DHI, 2007)
4-tert-octylphénol	140-66-9	Substance SVHC ⁴ RMOA ⁵ Substance dans les articles	Skin Irrit 2. H315 Eye Dam 1. H318 Aquatic Acute 1 H400 Aquatic Chronic 1	Substance non incluse dans le règlement « biocides »	Substance non autorisée dans les matériaux en contact avec les denrées alimentaires	Règlement (CE) n° 689/2008 concernant les exportations et importations de	PE1 (BKH ⁸ , 2002 et DHI ⁹ , 2007)

³ Revue de la réglementation à l'exclusion des réglementations liées aux matériaux destinés aux produits de santé, et dispositifs médicaux ainsi qu'aux médicaments à usages humain et vétérinaire.

⁴ Substance of very high concern (substances extrêmement préoccupantes)

⁵ Risk Management Option Analysis

Avis de l'Anses
Saisine n° «2009-SA-0331»

Substance	N°CAS	REACH - règlement (CE) n° 1907/2006	CLP - règlement (CE) n°1272/2008 Dont Classification CMR	Réglementation BIOCIDES - règlement (UE) n°528/2012	Réglementation MCDA	Autres réglementations ³	Classement PE
			H410 Limite de concentration spécifique : M = 10 (ATP01) ⁶			produits chimiques dangereux, dit règlement « PIC ⁷ » : substance soumise à la procédure de notification d'exportation	
4-nitrophénol	100-02-7	Substance enregistrée	Acute Tox. 4 H302 Acute Tox. 4 H312 Acute Tox. 4 H332 STOT RE 2 H373 ** (CLP00)	Substance non incluse dans le règlement « biocides »	Substance non autorisée dans les matériaux en contact avec les denrées alimentaires		PE2 (DHI)
2-(méthoxyéthoxy)éthanol ou DEGME	111-77-3	Annexe XVII : 0,1% _w DEGME dans les peintures, décapants, agents de nettoyage, émulsions auto-lustrantes et produits d'étanchéité pour planchers.	Repr.2 (susceptible de nuire au fœtus) (CLP00)	Substance non incluse dans le règlement « biocides »	Substance non autorisée dans les matériaux en contact avec les denrées alimentaires	VLEP (8h) = 5,1mg.m ⁻³	NC
4-tert-butylphénol	98-54-4	Substance enregistrée	Skin Irrit.2 H315 Eye Dam.1 H318	Substance non incluse dans le règlement « biocides »	Peut être utilisé comme monomère ou autre	Arrêté du 18 Décembre 2012 =	PE2 (BKH, 2002 et DHI,

⁸ BKH : Rapports européens commandités par la Commission européenne dans le cadre de l'étude des composés PE

⁹ DHI : Rapports européens commandités par la Commission européenne dans le cadre de l'étude des composés PE

⁶ La substance n'a pas de classification harmonisée concernant le caractère CMR, ce qui peut signifier : soit que ces effets n'ont pas été étudiés, soient que les données étaient indisponibles pour classer la substance CMR, soit que les données étaient suffisantes et ont conclu que la substance n'était pas CMR

⁷ PIC : Prior informed consent (consentement préalable informé)

Avis de l'Anses
Saisine n° «2009-SA-0331»

Substance	N°CAS	REACH - règlement (CE) n° 1907/2006	CLP - règlement (CE) n°1272/2008 Dont Classification CMR	Réglementation BIOCIDES - règlement (UE) n°528/2012	Réglementation MCDA	Autres réglementations ³	Classement PE
		PACT List = RMOA et Evaluation des dangers	Repr.2 H361f (ATP06)		substance de départ ou macromolécule obtenue par fermentation microbienne. Limite de migration spécifique = 0,05mg.kg-1 de denrée alimentaire.	Interdit comme substance parfumante, allergisante dans les jouets :	2007
4-nonylphénol	104-40-5	Le 4-nonylphénol linéaire, le 4-nonylphénol ramifié, les nonylphénols (NPs) ainsi que les éthoxylates de nonylphénol (NPEs) sont inscrits sur la liste candidate des substances soumises à autorisation	Pas de classification harmonisée	Substance non incluse dans le règlement « biocides »	<u>Substance non autorisée dans les matériaux en contact avec les denrées alimentaires</u>	<u>Règlement (CE) n° 689/2008</u> : substance soumise à la procédure de notification d'exportation	PE1 selon le DHI ¹⁰

¹⁰ A noter que les mélanges de nonylphénols (n°CAS : 25154-52-3) et le 4-nonylphénol ramifié (n°CAS : 84852-15-3) sont également classés PE1 (BKH, 2000) et toxique pour la reproduction de catégorie 2 selon l'annexe VI du règlement CLP.

Certaines de ces 6 substances font l'objet de réglementations sectorielles (cf. tableau 1) et sont enregistrées au titre du règlement n° 1907/2006¹¹ (REACH).

- Le DEGME est inscrit à l'annexe XVII du règlement REACH concernant une restriction de mise sur le marché en tant que substance ou comme constituant de mélanges à une concentration égale ou supérieure à 0,1 % en masse dans les peintures, les décapants peintures, les agents de nettoyage, les émulsions auto-lustrantes et les produits d'étanchéité pour plancher destinés à la vente au public.
- L'utilisation des nonylphénols et des éthoxylates de nonylphénols a fait l'objet de mesures restrictives dès 2005 (inscription en annexe I de la directive 2003/53/CE¹² puis en annexe XVII du règlement REACH), limitant leur concentration à 0,1 % en masse pour les utilisations dans les nettoyants industriels et domestiques, le traitement des textiles et du cuir, l'industrie du papier et carton, les cosmétiques et autres produits d'hygiène, les formulants ou co-formulants de phytosanitaires et biocides, les émulsifiants de produits agricoles, les produits pour l'usinage des métaux. La saisine concerne exclusivement le 4-nonylphénol linéaire, et la restriction détaillée ci-dessus s'applique aux mélanges de nonylphénols (dont le 4-nonylphénol linéaire peut faire partie) et aux nonylphénols ramifiés.
- Par ailleurs, le 4-*tert*-octylphénol et les nonylphénols ramifiés, linéaires, ainsi que les éthoxylates ont été inscrits sur la liste des substances extrêmement préoccupantes candidates en vue d'une autorisation de mise sur le marché respectivement depuis le 19/12/2011 et le 20/06/2013.

La caractérisation des expositions réalisée par l'Agence dans le présent avis porte sur les expositions à des produits commercialisés destinés au grand public, selon l'approche décrite dans le rapport « Méthode d'évaluation des risques sanitaires liés à la présence de substances reprotoxiques et/ou perturbatrices endocriniennes dans les produits de consommation » (Anses, 2014). Elle exclut les expositions *via* l'alimentation ou liées à une exposition à ces six substances du fait de l'utilisation de produits phytopharmaceutiques, de médicaments à usages humain ou vétérinaire, de produits cosmétiques ou de dispositifs médicaux. Les substances utilisées dans les produits cosmétiques font l'objet de travaux de l'Agence nationale de sécurité des médicaments (ANSM), et aucun produit phytopharmaceutique utilisé en France n'est concerné par les substances initialement incluses dans la liste de la saisine de la DGS.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

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

Le groupe de travail « Perturbateurs endocriniens » (GT PE), rattaché au Comité d'experts spécialisé « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » (CES Substances) a été mobilisé par l'Anses pour répondre à cette saisine.

Les travaux d'expertise du groupe de travail ont été soumis régulièrement au CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques entre le 31 décembre 2014 et septembre 2015. Les rapports produits par le groupe de travail tiennent compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES.

Les travaux des experts ont conduit à l'élaboration des documents suivants :

¹¹ Règlement N° 1907/2006 du Parlement européen et du Conseil du 18 décembre 2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances (REACH).

¹² Directive 2003/53/CE du Parlement européen et du Conseil du 18 juin 2003 portant vingt-sixième modification de la directive 76/769/CEE du Conseil concernant la limitation de la mise sur le marché et de l'emploi de certaines substances et préparations dangereuses (nonyl- phénol, éthoxylate de nonylphénol et ciment)

Pour chaque substance :

- Un rapport sur la caractérisation des dangers aux substances PE et/ou reprotoxiques 2 qui inclut le profil toxicologique des substances, jusqu'à la sélection des doses critiques à considérer pour une éventuelle ERS.
- Un rapport sur les filières, usages et exposition qui présente les données d'exposition à ces substances : les propriétés physico-chimiques, la réglementation applicable, les résultats de l'enquête de filières, de l'extraction des bases de données et de la revue bibliographique ayant servi à identifier les produits de consommation contenant ces substances et les données de composition associées ainsi que les données de contamination environnementale (air intérieur, air extérieur et poussières sédimentées).

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

■ METHODOLOGIE DE L'EXPERTISE COLLECTIVE

Concernant la caractérisation des dangers, l'analyse des études scientifiques disponibles portant sur les effets des six substances, en particulier sur les effets reprotoxiques et perturbateurs endocriniens, a permis d'identifier des effets critiques jugés pertinents pour la conduite éventuelle d'une évaluation des risques pour la santé (ERS) pour ces 6 substances (analyse bibliographiques jusqu'en 2014).

Concernant la caractérisation des expositions et de l'approche par «usages», une enquête de filières a été réalisée auprès de 37 000 industriels français entre août 2010 et mai 2011 afin d'identifier les produits sur le marché contenant ces substances. Cette enquête a été complétée par une recherche bibliographique et l'extraction de bases de données renseignant la composition de produits de consommation telles que la Banque nationale des produits et compositions (BNPC)¹³ gérée par les centres antipoison (CAP), et les banques de données Sepia¹⁴ de l'INRS et Simmbad¹⁵ du ministère en charge de l'environnement ; ou des mesures d'exposition aux substances chimiques pour des activités professionnelles (base de données Colchic). Ces recherches ont été réalisées sur la période 2000 – 2012. Pour rappel, dans le cadre de ces travaux, les expositions ont été évaluées pour la population générale (incluant les populations vulnérables, femmes enceintes, enfants) et, lorsque cela a été jugé pertinent, les professionnels manipulant des produits de consommation, dits «grand public» (hors fabrication, transformation, distribution et élimination). En complément, les données de contamination dans l'air et les poussières sédimentés ont été recherchées à partir d'une revue de la littérature sur la période 2000-2014.

¹³La BNPC rassemble les informations validées utiles aux médecins des centres antipoison dans l'exercice de leurs activités de réponse téléphonique à l'urgence toxicologique, d'information et d'expertise toxicologique, de toxicovigilance, de prévention des intoxications.

¹⁴ La base de données Sepia répertorie les mélanges chimiques très toxiques, toxiques, corrosifs ou biocides, à déclaration obligatoire, mises sur le marché français ainsi que les mélanges transmis suite à une demande de l'INRS ou, dans une moindre mesure, les renseignements transmis spontanément par les industriels.

¹⁵ La base de données Simmbad accessible au grand public répertorie les produits biocides qui ont été déclarés par les industriels auprès du ministère de l'environnement et dont la déclaration a été acceptée.

■ RESULTAT DE L'EXPERTISE COLLECTIVE

CARACTERISATION DES DANGERS ET DES USAGES

Les dangers pris en compte par les experts portent **sur les effets liés à la reproduction et au développement**. Les dangers retenus suite à une exposition de modèles expérimentaux animaux à ces molécules et qui ont servi à caractériser les effets chez l'Homme sont synthétisés ci-dessous (cf. annexe1).

4-chloro-3-méthylphénol (*p*-chlorocrésol) (n° cas 59-50-7)

Caractérisation des dangers : Les données *in vivo* sont essentiellement issues des rapports industriels non publiés de Bayer (1988, 1991). Une étude sub-chronique par voie cutanée [13 semaines, 6h/j et 5 j/semaine à 0, 20, 100, et 500 mg/kg pc/j (Bayer 1991a)] n'a pas montré d'effets chez des rats Wistar. Le NOAEL¹⁶ pour l'exposition par contact cutané fut établi par les auteurs à 500 mg/kg/j. Une étude sur le développement a été réalisée chez des rates exposées par voie orale à 0, 30, 100, et 300 mg/kg de pc /j entre les jours 6 et 15 de gestation. Une toxicité maternelle est observée à 100 mg/kg/j. L'exposition *in utero* à la dose de 300 mg/kg/j, montre une toxicité sur le fœtus se traduisant par une baisse du poids fœtal et une augmentation de malformation au niveau oculaire (microphthalmie et anophthalmie). Un NOAEL a été établi par les auteurs à 30 mg/kg/j.

Identification des usages : Du fait de ses propriétés biocides, le *p*-chlorocrésol est utilisé en tant qu'agent conservateur et agent désinfectant dans des produits grand public et dans des produits et matériaux professionnels. Les données de concentration disponibles dans les produits concernent principalement les nettoyants et désinfectants. Chez l'Homme, des données relatives à des observations sur d'éventuels effets de sensibilisation et d'irritation de la substance après contact cutané, du fait de l'utilisation de la substance comme conservateur dans les préparations cosmétiques permettent de conclure à l'absence d'effets pour les concentrations utilisées (1 à 5%).

Conclusion : Les études disponibles sont jugées de très bonne qualité et peuvent être retenues pour une ERS. Sur la base de ces données, les experts retiennent un NOAEL maternel de 30 mg/kg pc/j, basé sur l'absence d'effets chez des rates gravides Wistar (Bayer 1991b). La réalisation par l'agence d'une ERS liée à la présence du chlorocrésol dans les produits de consommation n'apparaît pas pertinente du fait de l'utilisation de la substance comme conservateur dans les préparations cosmétiques (concentrations utilisées 1 à 5%) où aucun effet toxique n'est observé.

4-tert-octylphénol (n° cas 140-66-9)

Caractérisation des dangers : Huit études ont été recensées, dont 4 études sur la reprotoxicité et 4 études sur le développement, toutes chez le rat. Les NOAEL se situent entre 100 et 400 mg/kg/j. La plupart des études n'ont pas été conduites selon un protocole standardisé et ont été réalisées à des doses de 4-tert-octylphénol (4tOP) relativement fortes. De ce fait, les effets observés sont hétérogènes et parfois contradictoires. Les effets sur la reproduction et le développement chez les rats mâles montrent principalement une diminution du poids brut des organes reproducteurs et des paramètres spermatiques (NOAEL = 150 mg/kg pc/j, voie orale chez le rat adulte), des atteintes histologiques au niveau du testicule avec une réduction de la taille des tubes séminifères, une

¹⁶ NOAEL : No Observed Adverse Effect Level (Dose maximale sans effet néfaste observé)

désorganisation des cellules de la spermatogénèse (LOAEL = 571 mg/kg/j, par voie sous-cutanée, chez les rats prépubères de 4 semaines), une diminution du nombre de spermatozoïdes et une augmentation significative des anomalies de la tête et du flagelle des spermatozoïdes (LOAEL = 66 mg/kg/j, voie sous-cutanée, chez les rats âgés de 8 semaines). Chez les femelles, est observée une diminution du nombre de cycles ovariens de 4 à 5 jours, une augmentation de la durée du dioestrus (NOEL = 100 mg/kg/j, voie orale, chez les rates âgées de 25 jours), des troubles du cycle œstral, l'apparition d'un œstrus persistant (NOAEL = 25 mg/kg/j, voie sous-cutanée, chez les rates âgées de 11 semaines), une baisse statistiquement significative du poids (relatif et absolu) de l'utérus chez les rates femelles [NOAEL = 2000 ppm (soit de 111 à 369 mg/kg/j, chez les rates âgées de 6-17 semaines), voie orale], une diminution des performances sexuelles, une baisse de la fertilité chez les mâles, une diminution du taux d'implantation. Sont observés également des effets sur le développement : une augmentation de la mortalité pré et postnatale, une diminution de la taille des portées (NOAEL = 250 mg/kg/j, voie orale), une augmentation statistiquement significative de l'incidence de pertes post-implantatoires par portée (NOAEL = 15,6 mg/kg/j, voie orale, chez les rates âgées de 12-15 semaines).

Identification des usages : Le 4tOP n'entre pas directement dans la formulation de produits finis. Il est utilisé comme intermédiaire dans la synthèse de résines phénoliques et d'éthoxylates d'octylphénol (OPEs), aux utilisations industrielles diverses.

Il n'est pas exclu que du 4tOP libre n'ayant pas été polymérisé soit libéré au cours de l'utilisation des produits fabriqués à partir des résines (colles, peintures, vernis, matières plastiques). Les données de concentrations résiduelles ne sont généralement pas disponibles.

Conclusion : La réalisation d'une ERS liée à la présence du 4-*tert*-octylphénol dans des produits de consommation n'apparaît pas possible du fait de l'absence de données permettant de quantifier les expositions liées aux usages identifiés. Cependant, les études identifiées et retenues par les experts autant pour ce qui concerne le développement que la reprotoxicité sont jugées de bonne qualité pour une ERS.

4-nitrophénol (n° cas 100-02-7)

Caractérisation des dangers : Huit études ont été recensées dont 5 études sur le développement (2 *in utero* et 3 périnatales) dont 4 études chez le rat et une *in utero* chez la souris. A des niveaux d'exposition relativement élevés, aucun effet n'est observé sur la reproduction et le développement chez l'animal, et ce même en approchant les valeurs létales (cas des souris traitées à 400 mg/kg/j, alors que la DL₅₀ déterminée pour cette espèce est de l'ordre de 625,7 mg/kg). Une exposition *in utero* montre des effets sur la viabilité des petits et leur poids corporel ; les mères ayant été exposées par voie orale à des doses comprises entre 300 et 400 mg/kg/j. A noter que cette substance a fait l'objet d'une étude sur deux générations et d'études de toxicité chroniques, considérées par la réglementation comme suffisantes pour étudier la fertilité. Par contre, ces études sur le développement ont été réalisées selon des protocoles non standardisés (une seule dose, temps d'exposition court ...) et ne peuvent être considérées comme suffisantes pour identifier un risque pour le développement.

Identification des usages : Les données de la bibliographie indiquent que le 4-nitrophénol est utilisé pour la fabrication de produits tels que les colorants azoïques aux utilisations industrielles diverses (teinturerie, cuir, peintures et vernis, papier, encres...), les matières plastiques, certains composants utilisés dans l'industrie de la photographie et certains produits pharmaceutiques, biocides et phytopharmaceutiques.

Pour toutes ces utilisations, le 4-nitrophénol est utilisé comme intermédiaire et n'entre donc pas directement dans la formulation du produit fini bien que le 4-nitrophénol puisse être retrouvé en

faibles quantités dans les mélanges et articles concernés. Les données de concentrations résiduelles ne sont généralement pas disponibles. Les seules données de concentration disponibles sont issues de la BNPC¹⁷ et concernent des produits phytopharmaceutiques, dont l'évaluation n'entre pas dans le champ de la saisine.

Conclusion : Une ERS liée à la présence du 4-nitrophénol dans des produits de consommation n'est pas pertinente du fait de l'absence de données permettant de quantifier les expositions liées aux usages identifiés grand public. De plus, les données de toxicité existantes semblent indiquer une sensibilité plus grande des animaux jeunes et prépubères quant aux effets de perturbation de l'axe hypothalamo-hypophysio-testiculaire.

DEGME (ou 2-(méthoxyéthoxy)éthanol) (n° CAS 11-77-3)

Caractérisation des dangers : Les données toxicologiques chez l'animal portant sur la fertilité chez le mâle montrent, d'une manière générale, une absence d'effet ou des effets à des doses d'exposition élevées supérieures à 1000 mg/kg/j par voie orale. Quatre études sur le développement ont été identifiées entre 1983 et 2009 chez le rat et le lapin. Les effets sur le développement montrent principalement la présence de malformations cardiovasculaires (NOAEL : 720 mg/kg/j par voie orale), une diminution du poids de la portée et des retards d'ossification (NOAEL : 250 mg/kg/j par voie sous-cutanée), en particulier de l'os hyoïde (NOAEL : 50 mg/kg/j par voie cutanée).

Identification des usages : Le DEGME est utilisé comme solvant et entre dans la composition de produits tels que les peintures et leurs décapants, les produits phytosanitaires, les produits d'entretien et de finition du bois, les produits de nettoyage à usages domestique et industriel et les produits d'entretien mécanique. Le DEGME est également utilisé dans l'industrie des textiles et du cuir et entre dans la composition des encres. Le DEGME est également employé dans les produits biocides, les cosmétiques, les produits dérouillant, les produits pour le bâtiment, pour la céramique, la verrerie et les émaux et comme matière première dans la synthèse de plastifiants. Il serait enfin utilisé dans l'industrie électronique pour la fabrication de circuits imprimés. Parmi les usages identifiés, les données de concentration disponibles dans les produits concernent les produits nettoyants de surface, les produits lave – glace automobiles, les détachants textiles, les cires pour chaussures, les vernis et les produits d'entretien et de finition du bois. La présence de DEGME dans ces articles et préparations fait l'objet d'une restriction européenne.

Conclusion : Les données permettant de mener une ERS ne sont disponibles que pour les usages (cf. tableau 1) pour lesquels le DEGME est déjà réglementé et restreint à 0,1% massique en composition.

L'étude de Scortichini et coll. (1986) a été retenue comme étude de qualité avec un NOAEL identifié par les auteurs à 50 mg/kg/j par voie sous-cutanée. L'effet identifié pour une éventuelle ERS est un retard d'ossification, apparition d'ostéophytes cervicaux et des retards d'ossification de l'os hyoïde. Cependant, la pertinence de conduire une ERS est faible pour les usages déjà réglementés.

4-tert-butylphénol (n° CAS 98-54-4)

Caractérisation des dangers : Concernant la fertilité, une étude de type OCDE 416 - étude de toxicité pour la reproduction sur deux générations, réalisée chez le rat aux doses de 70, 200 et 600 mg/kg pc/j par voie orale a montré des effets systémiques chez les animaux parents et des effets sur la reproduction à partir de 200 mg/kg pc/j. Un NOAEL de 70 mg/kg pc/j pour la reprotoxicité a été déterminé sur la base des effets ovariens et de l'atrophie vaginale observée à partir de 200

¹⁷ Base nationale des produits et compositions.

mg/kg pc/j. A noter que chez le rat l'administration par voie orale de 4-tertbutylphénol à une dose de 200 mg/Kg pc/j montre des effets reprotoxiques mais également des effets systémiques. Une seule étude de type OCDE 422, réalisée par voie orale chez le rat Sprague Dawley (exposition de 4 semaines, chez les mâles et exposition 14 jours avant l'accouplement chez les femelles jusqu'au 4^{émé} jour de lactation) n'a pas montré d'effet reprotoxique chez les parents ou la descendance jusqu'à la dose de 200 mg/kg pc/j. Un NOAEL de 60 mg/kg pc/j pour la toxicité systémique a été déterminé sur la base des effets observés à 200 mg/kg pc/j chez les mâles et les femelles (dyspnée chez les femelles et modifications des paramètres hématologiques chez les mâles).

Identification des usages : Le 4-*tert*-butylphénol est utilisé comme intermédiaire de synthèse dans la fabrication des résines phénoliques et époxydes et des polycarbonates dont les applications industrielles sont diverses. Il n'est pas exclu que de faibles concentrations de 4-*tert*-butylphénol libre puissent se retrouver dans les produits ainsi fabriqués. Les données de concentrations résiduelles ne sont généralement pas disponibles. Les seuls produits destinés au grand public pour lesquels des données de concentration en 4-*tert*-butylphénol ont été identifiées sont un siccatif pour peintures à l'huile (utilisation marginale) et une colle (bois, caoutchouc, plastiques, cuir, liège, moquettes, métaux). Ce dernier usage apparaît comme l'utilisation prédominante du 4-*tert*-butylphénol telle que recensée dans la base de données Sepia et la bibliographie.

Conclusion : Le 4-*tert*-butylphénol est utilisé comme intermédiaire de synthèse dans la fabrication des résines phénoliques et époxydes et des polycarbonates. Parmi les usages identifiés, des données de composition sont disponibles pour seulement les colles et les textiles. Pour l'usage colle, il existe une évaluation européenne (2008) qui conclut en l'absence de risque pour les usages domestiques. Pour l'usage textile, des travaux sont en cours à l'Agence en réponse à la saisine n°2014-SA-0237.

La réalisation d'une ERS liée à la présence du 4-*tert*-butylphénol dans des produits de consommation n'apparaît pas possible du fait de l'absence de données permettant de quantifier les expositions liées aux usages identifiés grand public.

Selon les données rapportées par l'ECHA¹⁸ (2011), une étude reprotoxique de «screening» (Japan, MHW, 1996) mentionne une absence de toxicité à la dose maximale (NOAEL : 200 mg/kg/j). Une étude sur le développement (Clubb and Jardine 2006) mentionne un NOAEL de 70 mg/kg/j sur la base d'une diminution du nombre d'implantations et du nombre de petits vivants par portée, de la taille de la portée et du poids de la portée ainsi que du gain de poids de la portée à 600 mg/kg pc/j chez les F0 et les F1. Les deux études sont jugées de bonne qualité. Néanmoins, seule l'étude sur le développement peut être retenue pour une ERS car l'ECHA ne recommande pas d'utiliser les études de screening ne montrant pas de toxicité.

4-nonylphénol (n° CAS 104-40-5)

Caractérisation des dangers : Huit études ont été identifiées entre 2000 et 2014 dont 6 sur le développement et 2 sur la reproduction chez différentes espèces de rats exposés en prénatal et/ou postnatal ou sur plusieurs générations.

Des études réalisées chez des rats exposés en péri-, postnatal ou sur plusieurs générations par voie orale à au moins 50 mg.kg⁻¹.j⁻¹ ont mis en évidence des effets chez la femelle (tels qu'une ouverture vaginale précoce, modification de la durée du cycle œstral, diminution du poids absolu et relatif des ovaires sans atteinte histologique associée, diminution de la LH sérique). Ces études ont également mis en évidence des modifications histologiques de la glande mammaire à des doses plus faibles (10 mg.kg⁻¹.j⁻¹). Chez différentes espèces de rats exposés en pré et/ou postnatal ou sur plusieurs générations, des études ont décrit des effets sur l'appareil reproducteur mâle à

¹⁸ European chemicals agency / Agence européenne des produits chimiques.

partir de 15 mg.kg⁻¹.j⁻¹ tels qu'une diminution du poids des testicules, de l'épididyme et de la prostate (poids absolu et/ou relatif), des altérations de la spermatogénèse avec un retentissement sur la production spermatique, une descente testiculaire précoce et une diminution de la testostérone sérique et des lésions de la prostate.

Identification des usages : Aucune information relative à l'emploi du 4-nonylphénol linéaire sous forme isolée n'est disponible dans la bibliographie. Les données disponibles indiquent que cet isomère entre dans la composition des mélanges de nonylphénols à chaînes linéaires (*a priori* moins utilisés que les mélanges ramifiés en industrie). Ces mélanges, désignés sous le terme générique de «nonylphénols » ne sont pas incorporés directement dans les formulations. Ils sont utilisés comme intermédiaires dans la synthèse de éthoxylates de nonylphénol (NPEs), de résines formo-phénoliques, de résines époxy et de phosphite de tris(nonylphényle) (TNPP), aux utilisations industrielles diverses.

Dans les produits fabriqués à partir des résines et du TNPP (colles, peintures, vernis, matières plastiques), il n'est pas exclu que du nonylphénol libre n'ayant pas réagi (et par conséquent du 4-NP linéaire) soit libéré au cours de leur utilisation. Cependant, les données relatives aux concentrations en 4-NP résiduel ne sont pas disponibles.

Concernant les produits synthétisés à partir de NPEs, ceux-ci peuvent également contenir de faibles quantités de nonylphénols n'ayant pas été polymérisés. Cependant, l'utilisation des nonylphénols et des NPEs est déjà très réglementée au niveau européen et a fait l'objet de mesures restrictives depuis 2005 (cf. tableau 1), limitant leur concentration à 0,1 % pour différentes utilisations. Par ailleurs, la recherche bibliographique, l'enquête de filières et l'extraction des bases de données n'ont pas permis d'identifier de produits synthétisés à partir de NPEs non couverts par cette restriction¹⁹ (cf. contexte réglementaire), à l'exception des textiles (produits finis) dans lesquels des concentrations en NPEs ont été quantifiées. Des mesures de gestion permettant de couvrir cette voie d'exposition sont d'ores et déjà mises en œuvre, par l'intermédiaire d'un dossier de restriction dans le cadre de la réglementation REACH des nonylphénols et des NPEs dans les textiles.

Conclusion : Le manque d'informations relatives à l'emploi du 4-nonylphénol linéaire sous forme isolée et les niveaux de concentrations dans les produits synthétisés non disponibles, conduisent à ne pas réaliser d'ERS pour ces produits dans le cadre de la présente saisine.

Trois études de bonne qualité peuvent être retenues pour conduire une ERS. Deux portent sur le développement (Moon et coll., 2007 ; Woo et coll., 2007) fondées respectivement sur le développement des glandes mammaires et l'augmentation du poids absolu et relatif de la thyroïde chez les mâles et une faible augmentation de la LH sérique chez les femelles. La troisième étude porte sur les effets reprotoxiques (Nagao et coll., 2001) et montre une diminution de la LH sérique et sur une ouverture vaginale précoce chez le rat de la génération F1. Ces études ont été retenues pour établir des VTR sur le développement et l'effet reprotoxique à l'Agence.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence au vu de l'analyse et des conclusions du Comité d'experts spécialisés «Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » relatives à la caractérisation des dangers et des expositions associée aux six substances, conclut comme suit :

¹⁹ Les travaux ont permis d'identifier des usages couverts par la restriction : nettoyants industriels et domestiques, traitement des textiles et du cuir, industrie du papier et carton, cosmétiques et autres produits d'hygiène, formulants ou coformulants de pesticides et biocides, émulsifiants de produits agricoles, produits pour l'usinage des métaux.

4-chloro-3-méthylphénol (p-chlorocrésol) (n° CAS 59-50-7) : cette substance est en évaluation dans le cadre de la réglementation biocide. Par conséquent, il n'y a pas lieu de réaliser une ERS liée à la présence du chlorocrésol dans les produits de consommation.

4-tert-octylphénol (n° CAS 140-66-9): Les seules données de concentration disponibles sont issues de la BNPC et concernent des produits cosmétiques, dont l'évaluation n'entre pas dans le champ de la saisine, et une colle pour laquelle il est uniquement fait mention d'octylphénol, sans précision supplémentaire sur l'isomère employé. De plus, le 4tOP a été inscrit sur la liste des substances candidate à l'annexe XIV du règlement REACH. Ce dispositif vise à ce que chaque utilisation de certaines substances parmi les plus préoccupantes pour la santé et l'environnement soit soumise à une autorisation afin de permettre son contrôle strict. A terme, une fois qu'une substance est incluse à l'annexe XIV, elle ne peut plus être fabriquée/importée/utilisée sans autorisation de la Commission européenne. Aucune ERS liée à la présence du 4-tert-octylphénol dans les produits de consommation ne sera conduite.

4-nitrophénol (n° CAS 100-02-7) : La réalisation d'une ERS liée à la présence du 4-nitrophénol dans des produits de consommation n'apparaît pas pertinente du fait de l'absence de données permettant de quantifier les expositions liée aux usages identifiés grand public.

DEGME (n° CAS 111-77-3) : Les données permettant de mener une ERS ne sont disponibles que pour les usages (cf. tableau 1) pour lesquels le DEGME est déjà réglementé et restreint à 0,1% massique en composition, aussi, pour ces usages, il n'y a pas lieu de réaliser une ERS. En revanche, si des données nouvelles permettant de quantifier les expositions à des usages non concernés par la restriction sont identifiées, l'Agence considérera alors l'éventualité de réaliser une ERS pour les expositions grand public et les usages professionnels concernés.

4-tert-butylphénol (n° CAS 98-54-4) : Le 4-tert-butylphénol est utilisé comme intermédiaire de synthèse dans la fabrication des résines phénoliques et époxydes et des polycarbonates. Parmi les usages identifiés, des données de composition sont disponibles pour seulement les colles et les textiles. Pour l'usage colle, il existe une évaluation de risque européenne (2008), qui conclut en l'absence de risque pour le consommateur. Pour l'usage textile, des travaux sont en cours à l'Agence en réponse à la saisine n°2014-SA-0237.

4-nonylphénol (n° CAS 104-40-5) : Le 4-nonylphénol entre dans la composition des mélanges de nonylphénols pour lesquels une restriction d'usage à 0,1% massique appliquée depuis 2005, dans des articles grand public (nettoyants industriels et domestiques, traitement des textiles et du cuir, industrie du papier et carton, cosmétiques et autres produits d'hygiène, formulants ou coformulants de pesticides et biocides, émulsifiants de produits agricoles, produits pour l'usinage des métaux). Cette substance est inscrite également au Corap en 2014. Un nouveau dossier de restriction concernant la mise sur le marché de textiles contenant des nonylphénols ou des éthoxylates de nonylphénol est en cours). Pour les autres usages du 4-nonylphenol identifiés non concernés par la réglementation REACH (colles, peintures, vernis, matières plastiques), les données disponibles sont insuffisantes pour quantifier les expositions des consommateurs (absence de données de composition). L'Agence ne conduira pas d'ERS en lien avec une exposition dans des produits de consommation, du fait de l'absence de données permettant de quantifier ces expositions.

De plus, les nonylphénols ont été inscrits sur la liste des substances à inclure à l'annexe XIV pour les procédures d'autorisation. Ce dispositif vise à ce que chaque utilisation de certaines substances parmi les plus préoccupantes pour la santé et l'environnement soit soumise à une autorisation afin de permettre son contrôle strict. A terme, une fois qu'une substance est incluse à l'annexe XIV, elle ne peut plus être fabriquée/importée/utilisée sans autorisation de la commission européenne. Compte tenu de ces éléments, il n'y a pas lieu de réaliser une ERS pour ces produits.

A noter que cette substance est mesurée dans l'Etude de l'Alimentation Totale infantile (EATi) en cours de réalisation et fera donc l'objet d'une ERS dans les aliments.

Au total, les publications et autres sources d'informations disponibles ne rapportent pas de données suffisantes, sur les dangers ou/et les expositions pour les usages considérés dans la présente expertise, pour conduire une évaluation quantitative des risques sanitaires (ERS) pour les six substances.

De plus, trois substances, le 4-*tert*-octylphénol (n° CAS 140-66-9), le DEGME (n° CAS 111-77-3) et le 4-nonylphénol (n° CAS 104-40-5), font déjà l'objet d'un encadrement réglementaire au niveau européen, ce qui conduit *de facto* à limiter, voire à exclure, l'exposition des consommateurs. Dans ces conditions, l'Agence considère qu'il n'est pas pertinent de conduire une ERS pour ces trois substances.

Par ailleurs, l'Agence prend acte du fait qu'en l'état actuel des discussions au niveau européen sur les critères de perturbation endocrinienne, les experts ne peuvent pas se prononcer sur le caractère perturbateur endocrinien des 6 substances investiguées. Lorsque les critères de perturbation endocrinienne auront été précisés dans la réglementation européenne, les données relatives à ces substances pourront être ré-analysées et une conclusion quant au caractère perturbateur endocrinien éventuel de ces substances pourra être proposée.

Une demande de classification pour la toxicité sur la reproduction et le développement pourra être proposée pour 3 de ces substances dès lors que de nouvelles données permettant de confirmer un effet éventuel sur la reproduction et le développement auront pu être recueillis (par exemple : 4-*tert*-octylphénol, 4-nitrophénol et 4-chloro-3-méthylphénol ou *p*-chlorocrésol). Il convient dans ces conditions de procéder à une veille bibliographique pour les composés de la famille des phénols.

Marc MORTUREUX

MOTS-CLES

4-méthyl-3-chlorophénol ou chlorocrésol (n° cas 59-50-7), 4-nitrophénol (n° CAS 100-02-7), 4-tert-octylphénol (n° CAS 140-66-9), DEGME (ou 3-méthoxy éthoxy éthanol) (n° CAS 11-77-3), 4-ter-butylphénol (n° CAS 98-54-4), 4-nonylphénol (n° CAS 104-40-5), effets santé, reprotoxicité, développement, fertilité, valeurs toxicologiques de référence.

BIBLIOGRAPHIE

Anses (2014) Méthode d'évaluation des risques sanitaires liés à la présence de substances perturbatrices endocriniennes et/ou reprotoxiques dans les produits de consommation. Rapport d'expertise collective, Maisons-Alfort.

Bian, Q.; Qian, J.; Xu, L.; Chen, J.; Song, L.; Wang, X. The toxic effects of 4-tert-octylphenol on the reproductive system of male rats. *Food and Chemical Toxicology* 2006, 44[8]; 1355-1361.

Blake, C. A. and Boockfor, F. R.: Chronic administration of the environmental pollutant 4-Tertoctylphenol to adult male rats interferes with the secretion of luteinizing hormone, folliclestimulating hormone, prolactin, and testosterone. *Biology of Reproduction* 1997, 57[2]; 255-266.

Harazono, A. and Ema, M: Effects of 4-tert-octylphenol on initiation and maintenance of pregnancy following oral administration during early pregnancy in rats. *Toxicology Letters* 2001, 119[1]; 79-84.

Kim SK, Lee HJ, Yang H, Kim HS, Yoon YD (2004) Prepubertal exposure to 4-tert-octylphenol induces apoptosis of testicular germ cells in adult rat. *Arch Androl* 50, 427-441.

Koizumi M, Yamamoto Y, Ito Y, Takano M, Enami T, Kamata E, Hasegawa R (2001). Comparative study of toxicity of p-NTP and 2,4-dinitrophenol in newborn and young rats. *The Journal of Toxicological Sciences*, Vol 26, No5, 299-311.

Laws SC, Carey SA, Ferrell JM, Bodman GJ, Cooper RL. (2000). Estrogenic activity of octylphenol, nonylphenol, bisphenol A and methoxychlor in rats. Toxicol Sci. 54(1):154-67.

Moon HJ, Han SY, Shin JH, Kang IH, Kim TS, Hong JH, Kim SH, Fenton SE. (2007) Gestational exposure to nonylphenol causes precocious mammary gland development in female rat offspring, *Journal of reproduction and development*, 53(2):333-44.

Nagao T, Wada K, Marumo H, Yoshimura S, Ono H. (2001) Reproductive effects of nonylphenol in rats after gavage administration: a two-generation study, *Reproductive Toxicol*, 15(3):293-315.

OECD: PHENOL, 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL)-CAS N°: 140-66-9;SIDS Initial Assessment Report. National SIDS Contact Point in Sponsor Country:Mr Georg KARLAGANIS-MEYER. 1995, Switzerland, OECD.

Plasterer MR, Bradshaw WS, Booth GM, Carter MW (1985). Developmental toxicity of nine selected compounds following prenatal exposure in the mouse: naphthalene, p-nitrophenol,

sodium selenite, dimethyl phthalate, ethylenethiourea, and four glycol ether derivatives. *Journal of toxicology and environmental health*, 15:25-38.

Rudel RA, Camann DE, Spengler JD, Korn LR, Brody JG (2003) Phthalates, alkylphenols, pesticides, polybrominated diphenyl ethers, and other endocrine-disrupting compounds in indoor air and dust. *Environ Sci Technol*. 37, 4543-4553.

Rudel RA, Dodson RE, Perovich LJ, Morello-Frosch R, Camann DE, Zuniga MM, Yau AY, Just AC, Brody JG (2010) Semivolatile endocrine-disrupting compounds in paired indoor and outdoor air in two northern California communities. *Environ Sci Technol*. 44, 6583-6590.

Schmidt, A., Walker, G., Hoffmann, W., Hostrup, O., et Butte, W. Chlorkresol (4-Chlor-3-methylphenol) im Hausstaub: Ergebnisse eines repräsentativen Monitorings Chlorocresol (4-chloro-3-methylphenol) in house dust: results of a representative monitoring. *Gefahrstoffe Reinhaltung der Luft A*. 62[n° 3], 95-98. 2002.

Scortichini BH, John-Greene JA, Quast JF, Rao KS. Teratologic evaluation of dermally applied diethylene glycol monomethyl ether in rabbits. *Fundam Appl Toxicol*. 1986 Jul;7(1):68-75.

Tyl, R. W.; Myers, C. B.; Marr, M. C.; Brine, D. R.; Fail, P. A.; Seely, J. C.; Van Miller, J. P.: Two-generation reproduction study with para-tert-octylphenol in rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 1999, 30[2 II]; 81-95. European Chemicals Agency. Information on chemicals - Registered substances - Chemical Substance Search (2011).
<http://apps.echa.europa.eu/registered/registered-sub.aspx#search>.

UE. European Union Risk Assessment Report: p-tert-butylphenol. 2008.

Kavlock RJ (1990). Structure-activity relationships in the developmental toxicity of substituted phenols: In vivo effects. *Teratology*, 41:43-59.

Woo GH, Shibutani M, Ichiki T, Hamamura M, Lee KY, Inoue K, Hirose M. (2007) A repeated 28-day oral dose toxicity study of nonylphenol in rats, based on the 'Enhanced OECD Test Guideline 407' for screening of endocrine-disrupting chemicals. *Arch Toxicol*. 81(2):77-88.

Yoshida M, Katsuda S, Takenaka A, Watanabe G, Taya K, Maekawa A. Effects of neonatal exposure to a high-dose p-tert-octylphenol on the male reproductive tract in rats. *Toxicol Lett*. (2001) 121, 21-33.

Zhang HY, Xue WY, Li YY, Ma Y, Zhu YS, Huo WQ, Xu B, Xia W, Xu SQ. (2014). Perinatal exposure to 4-nonylphenol affects adipogenesis in first and second generation rats offspring. *Toxicol Lett*. 3 ; 225(2):325-32.

ANNEXES

Annexe 1 : Synthèse des doses et des effets critiques issues de données expérimentales.

Substances	Conditions d'exposition (substance, véhicule, voie, durée du traitement, période d'exposition, espèce)	Types d'effets	Doses critiques	Effets critiques	Références
4-chloro-3-méthylphénol (<i>p</i> -chlorocrésol) (n° CAS 59-50-7)	Rats, voie cutanée, 13 semaines	Toxicité générale	NOAEL = 500 mg/kg de pc/j	Aucun effet	Bayer, 1991a
	Rats, in-utéro GD6-GD15	Développement in-utero	NOAEL maternel = 30 mg/kg de pc/j NOAEL développement intra-utérin = 100 mg/kg de pc/j	- A 100 mg/kg de pc/j : Respiration difficile, baisse de consommation alimentaire et d'eau, du gain de poids, et polyurie. - A 300 mg/kg/j : Baisse du poids moyen fœtal par portée, et légère augmentation significative du nombre de cas de microphtalmies et d'anophtalmies.	Bayer, 1991b
4-nitrophénol (n° CAS 100-02-7)	Voie orale, gavage, souris CD-1 gravides, traitées de GD1 à GD14, dose unique.	Développement in-utero	LOAEL 400mg/Kg/j	Survie des souris traitées abaissée de 19 % versus témoins. Pas de diminution du nombre moyen de petits vivants par portée, du poids à PND1 et PND3, et de l'indice de reproduction (nombre de femelles ayant eu des petits / nombre de	Plasterer <i>et al.</i> , 1985

Avis de l'Anses
Saisine n° «2009-SA-0331»

Substances	Conditions d'exposition (substance, véhicule, voie, durée du traitement, période d'exposition, espèce)	Types d'effets	Doses critiques	Effets critiques	Références
				femelles gravides survivantes).	
	Voie orale, gavage, rates gravides, une seule administration, à GD 11. Doses : 0, 100, 333, 667, 1000 mg/kg	Développement in-utero	NOAEL : 333 mg/kg	- Pas de modification de la viabilité, du poids corporel à PND1 – PND 6 postnataux à 333 mg/kg. -Pas de malformations manifestes ni de malformation de la queue, et du système urogénital.	Kavlock <i>et al</i> , 1990
	Voie orale, gavage, rats nouveaux nés, PND 4 à PND 21 Doses : 0, 80, 110, 160 mg/kg	Période périnatale	NOAEL : 110 mg/kg/j	-Pas de modification de la séparation préputiale ou de l'ouverture vaginale. - Pas de modification du poids des organes (cerveau, glande pituitaire, foie, reins, testicules, épидидyme, ovaires, et utérus) - pas de modification biologique ou biochimique du sang.	Koizumi <i>et al</i> . 2001
	Voie orale, gavage pendant 28j, rats de 5-6 semaines, exposés pendant 28 j Doses : 60, 160, 400,	Période post-natale tardive	NOAEL : 400 mg/kg/j	A 1000 mg/kg/j : 5/6ème des animaux morts (bradypnée, position prostrée ± convulsions) -Pas de modification du	Koizumi <i>et al</i> . 2001

Avis de l'Anses
Saisine n° «2009-SA-0331»

Substances	Conditions d'exposition (substance, véhicule, voie, durée du traitement, période d'exposition, espèce)	Types d'effets	Doses critiques	Effets critiques	Références
	1000 mg/kg/j			<p>poids corporel des organes ou de la consommation alimentaire</p> <p>-Pas de modification des paramètres hématologiques, biochimiques, et urinaires</p> <p>Seule modification pathologique significative = forte incidence de corps éosinophiles dans les cellules tubulaires proximales des reins. (Effet spécifique aux rats selon les auteurs)</p>	
	<p>Rats pré-pubères de 21j exposés pendant 14j par inj. s/c</p> <p>Doses : 0.01, 0.1, 1, et 10 mg/kg/j</p>	Période pré-pubère		Concentration de LH diminuée, et celle de prolactine augmentée dans tous les groupes de doses	Li <i>et al.</i> , 2009
		Période pré-pubère	LOAEL= 0.01 mg/kg/j	Baisse significative de la concentration de FSH, et augmentation significative de la corticostérone	Li <i>et al.</i> , 2009
		Période pré-pubère	LOAEL = 0.1 mg/kg/j	Baisse significative de la concentration de FSH, et augmentation significative de l'inhibine	Li <i>et al.</i> , 2009
		Période pré-pubère	LOAEL = 10 mg/kg/j	Augmentation significative	Li <i>et al.</i> , 2009

Avis de l'Anses
Saisine n° «2009-SA-0331»

Substances	Conditions d'exposition (substance, véhicule, voie, durée du traitement, période d'exposition, espèce)	Types d'effets	Doses critiques	Effets critiques	Références
				de la concentration plasmatique de testostérone, et de prolactine.	
4-tert-octylphénol (n° CAS 140-66-9)	Voie orale (gavage), pendant 30 jours aux doses de 0, 50, 150, 450 mg/kg/j. rat SD mâles adultes.	Effets sur la fertilité et la reproduction	NOAEL (toxicité sur la reproduction) = 150 mg/mg/kg pc/j,	Diminution du poids brut des organes reproducteurs et des paramètres spermatiques (numération et production spermatique) à 450mg/kg pc/j.	Bian <i>et al.</i> (2006)
	Voie orale (gavage), pendant 60 jours aux doses de 0, 25, 50, 125 mg/kg/j. Rats SD adultes.	Effets sur la fertilité et la reproduction	NOAEL (toxicité sur la reproduction) = 125 mg/kg/j. NOAEL (toxicité systémique) = 50 mg/kg/j,	Aucun effet observé sur les organes reproducteurs, aucun anomalie histologique testiculaire ou épidydimaire. Diminution du poids corporel statistiquement significative à la dose de 125 mg/kg/j.	Gregory <i>et al.</i> (2009)
	Voie orale (gavage) pendant 25 jours aux doses de 0, 20, 100, 200 mg/kg/j. Rats femelles adultes Long Evans.	Effets sur la fertilité et la reproduction	NOEL (effets sur la reproduction) = 100 mg/kg/j,	Diminution du nombre de cycles de 4 à 5 jours et augmentation de la durée du dioestrus à 200 mg/kg/j. Effets systémiques non étudiés.	Laws <i>et al.</i> (2000)
	Voie orale (via l'alimentation) sur deux générations aux doses	Effets sur la fertilité et la reproduction	NOAEL (pour les effets systémiques et postnataux) = 200	Baisse du poids corporel et du gain de poids corporel des parents (F0 et F1) et	Tyl <i>et al.</i> (1999)

Avis de l'Anses
Saisine n° «2009-SA-0331»

Substances	Conditions d'exposition (substance, véhicule, voie, durée du traitement, période d'exposition, espèce)	Types d'effets	Doses critiques	Effets critiques	Références
	<p>de 0, 0.2, 20, 200, 2000 ppm.</p> <p>Rats femelles SD.</p>		<p>ppm (soit de 1,05 à 3,2 mg/kg/j).</p> <p>NOAEL (effet sur la reproduction) = 2000 ppm (soit de 111 à 369 mg/kg/j).</p>	<p>des adultes de la génération F2 à 2000 ppm. Diminution du poids corporel des femelles des générations F0 et F1 à 2000 ppm pendant la période de lactation. Baisse statistiquement significative du poids (relatif et absolu) de l'utérus chez les femelles F0 exposées à 2000 ppm.</p> <p>Retard de l'ouverture vaginale et de la séparation du prépuce chez les petits F1 et F2 (attribué selon les auteurs à la diminution du poids corporel) à 2000 ppm.</p> <p>Etude sur deux générations de type OCDE 416 et ligne directrice de l'US EPA (870.3800 OPPTS).</p>	
	<p>Voie orale (gavage) pendant 2 semaines avant l'accouplement, 2 semaines pendant la période d'accouplement, et 4</p>	<p>Effet sur le développement</p>	<p>NOAEL (effet sur la reproduction/ développement) = 250 mg/kg/j.</p>	<p>A la dose de 500 mg/kg/j : Diminution des performances sexuelles, baisse de la fertilité chez les mâles, diminution du taux d'implantation et</p>	<p>Rapport SIDS, OCDE (1995)</p>

Avis de l'Anses
Saisine n° «2009-SA-0331»

Substances	Conditions d'exposition (substance, véhicule, voie, durée du traitement, période d'exposition, espèce)	Types d'effets	Doses critiques	Effets critiques	Références
	jours en post-partum aux doses de 0-125-250-500 mg/kg pc/j.			augmentation de la mortalité pré et postnatale, diminution de la taille des portées. En présence d'une forte toxicité maternelle. Conduit selon la ligne directrice OCDE 421.	
	Voie orale (intubation gastrique) pendant la gestation GD0-GD8 aux doses de 0-15,6-31,3-62,5-125-250-500 mg/kg pc/j. Rats femelles wistar.	Effet sur le développement	NOAEL (effet sur le développement) = 15,6 mg/kg/j,	Augmentation statistiquement significative de l'incidence de pertes post-implantatoires par portée à la dose de 31,3 mg/kg/j.	Harazono <i>et al.</i> (2001)
	Voie orale (gavage) de PND1 à PND5 à des concentrations de 0-12,5-25-50-100 mg/kg/j (huile de maïs). Rats adultes wistar.	Effet sur le développement	NOAEL (effets de toxicité systémique) = 12,5 mg/kg/j NOAEL (effet sur le développement)=100 mg/kg/j.	Diminution statistiquement significative du poids corporel observé à partir de 25 mg/kg/j. Aucun effet observé sur le développement de l'appareil reproducteur mâle et femelle. Aucun effet postnatal précoce sur la fonction de reproduction (accouplement et fertilité).	Nagao <i>et al.</i> (2001)

Avis de l'Anses
Saisine n° «2009-SA-0331»

Substances	Conditions d'exposition (substance, véhicule, voie, durée du traitement, période d'exposition, espèce)	Types d'effets	Doses critiques	Effets critiques	Références
DEGME (ou 2-(méthoxyéthoxy)éthanol) (n° CAS 11-77-3)	Voie cutanée du 6ème jour au 18ème jour de gestation. Lapins NZ	Effet lié à une exposition prénatale	50 mg/kg/j	Retards d'ossification, Apparition d'ostéophytes cervicaux et des retards d'ossification de l'os hyoïde. NOAEL _{tm} : 250 mg/kg/j.	Scortichini <i>et coll</i> , 1996
4-tert-butylphénol (n° cas 98-54-4)	Voie orale (gavage). Rat Sprague Dawley	Développement pré et postnatal	NOAEL (toxicité systémique) = 60 mg/kg pc/j NOAEL (toxicité sur la reproduction) = 200 mg/kg pc/j parental	Toxicité systémique observée chez les femelles (dyspnée) à 200 mg/kg pc/j et chez les mâles F0, (modifications biologiques) à partir de 60 mg/kg pc/j. Absence d'effet reprotoxique jusqu'à la dose maximale testée de 200 mg/kg pc/j. Étude de screening de type OCDE 422 avec une exposition de 4 semaines approximativement chez les mâles et exposition 14 jours avant l'accouplement chez les femelles jusqu'au 4ème jour de lactation	MHW, 1996 cité dans ECHA, 2011 et CE, 2008.
	Voie orale (nourriture) traitement sur 2-génération. Rat Sprague Dawley	Développement pré et postnatal	NOAEL (reprotoxicité)= 70 mg/kg pc/j NOAEL (toxicité systémique)= 70	Diminution du nombre d'implantations et du nombre de petits vivants par portée, de la taille de la portée et du poids de la	Clubb and Jardine 2006 cité dans CE, 2008.

Avis de l'Anses
Saisine n° «2009-SA-0331»

Substances	Conditions d'exposition (substance, véhicule, voie, durée du traitement, période d'exposition, espèce)	Types d'effets	Doses critiques	Effets critiques	Références
			mg/kg pc/j	<p>portée ainsi que du gain de poids de la portée à 600 mg/kg pc/j chez les F0 et les F1.</p> <p>Diminution Poids des petits et du poids de la portée à 600 mg/kg pc/j chez les F1 et à partir de 200 mg/kg pc/j chez les F0.</p> <p>Chez les F2, Diminution du poids des petits et du gain de poids des portées à partir de 200 mg/kg pc/j à PND 14 ainsi que de la taille des portées et du poids des portées à 600 mg/kg pc/j.</p> <p>Diminution pendant la lactation de PND1-4, du nombre de petits viables observée à 600 mg/kg pc/j (6 portées atteintes) chez les F0.</p> <p>Effets ovariens, atrophie vaginale observée à partir de 200 mg/kg pc/j.</p>	

Avis de l'Anses
Saisine n° «2009-SA-0331»

Substances	Conditions d'exposition (substance, véhicule, voie, durée du traitement, période d'exposition, espèce)	Types d'effets	Doses critiques	Effets critiques	Références
				<p>Retard de l'âge à l'ouverture vaginale (retard de 3j) et de la séparation préputiale (retard de 4j) à 600 mg/kg pc/j chez les F1.</p> <p>Modification du cycle oestral chez les F0 avec une prépondérance de femelles en pré-oestrus.</p> <p>Diminution du poids des surrénales et des ovaires à partir de 200 mg/kg pc/j chez les femelles</p> <p>Etude OCDE de type 416</p>	
4-nonylphénol (n° CAS 104-40-5)	Nonylphénols ramifiés (n°CAS 90481-04-2 et 84852-15-3), Voie orale (gavage dans l'huile de maïs), du 15ème au 19ème jour de gestation, rat	Effet lié à une exposition prénatale.	LOAEL = 10 mg.kg pc-1.j-1	Développement précoce de la glande mammaire chez les F1.	Moon <i>et al.</i> , 2007
	Nonylphénols linéaires (n°CAS 104-40-5 et 25154-52-3), Voie orale (gavage dans l'huile de maïs), exposition sur 2	Effet lié à une exposition périnatale	NOAEL = 10 mg.kg pc-1.j-1	Diminution LH sérique, ouverture vaginale précoce, diminution du poids absolu et relatif des ovaires sans atteintes histologiques chez les femelles F1	Nagao <i>et al.</i> , 2001

Avis de l'Anses
Saisine n° «2009-SA-0331»

Substances	Conditions d'exposition (substance, véhicule, voie, durée du traitement, période d'exposition, espèce)	Types d'effets	Doses critiques	Effets critiques	Références
	générations de manière continue de la première dose administrée aux F0 jusqu'à l'autopsie des F2 (PND21), rat			Diminution du nombre de petits par portée et du nombre de sites d'implantation dans la génération F2	
	Nonylphénols ramifiés (n°CAS 84852-15-3), voie orale (gavage dans l'huile d'olive), 28 jours, rat	Marqueurs de perturbation endocrinienne	NOAEL = 10 mg.kg pc-1.j-1	Augmentation du poids absolu et relatif de la thyroïde chez les mâles, faible Augmentation de la LH sérique chez les femelles	Woo <i>et al.</i> , 2007

Profil toxicologique

4-nonylphénol

Saisine n°2009-SA-331

RAPPORT d'expertise collective

Comité d'Experts Spécialisés

« Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence »

Groupe de Travail « Perturbateurs endocriniens »

Mars 2015

Mots clés

4-nonylphénol, effets santé, reprotoxicité, perturbateur endocrinien, toxicologie, développement, fertilité, valeurs toxicologiques de référence.

Avis et limitations de ce profil toxicologique

L'organisation de ce profil toxicologique et sa structure ont été élaborées et discutées dans le groupe de travail des perturbateurs endocriniens. L'objectif poursuivi est d'établir des profils toxicologiques sur la base des derniers rapports publiés par des organismes nationaux et dans la littérature récente afin d'identifier des études clés pouvant servir à l'évaluation du risque sanitaire. L'écriture de ce profil n'est pas faite dans l'intention de l'intégrer dans un profil toxicologique plus général. Au final, l'usage de ce document est destiné prioritairement à évaluer les effets reprotoxiques et/ou PE du 4-nonylphénol. C'est pourquoi l'organisation des sections est propre aux documents issus de ces travaux.

Présentation des intervenants

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

GROUPE DE TRAVAIL « PERTURBATEURS ENDOCRINIENS »

Président

M. Claude EMOND – Université de Montréal, Canada

Vice-président

M. Jean-Pierre CRAVEDI - Directeur de Recherche - INRA

Membres

M. Jean-Philippe ANTIGNAC - Ingénieur analyste - ONIRIS, LABERCA

Mme Martine APPLANAT-Directeur de recherche – INSERM.

M. Brice APPENZELLER - Responsable de laboratoire de biomonitoring - Centre de Recherche Public en Santé, Luxembourg

M. Rémy BEAUDOUIN-Chargé de recherche - INERIS.

M. Luc BELZUNCES – Directeur de recherche – Laboratoire de Toxicologie Environnementale, UR 406 A&E, INRA

Mme Marie-Chantal CANIVENC-LAVIER-Chargé de recherche-INRA.

M. Nicolas CHEVALIER-Médecin endocrinologue-Praticien hospitalier- CHU de Nice.

Mme Cecile CHEVRIER –Chargé de recherche-INSERM.

Mme Martine CLAUW - Toxicologue-vétérinaire - INPT/ENVT, Université de Toulouse

Mme Elisabeth ELEFANT - Médecin spécialisé en tératologie humaine - Centre de référence sur les Agents tératogènes - AP-HP hôpital Armand Trousseau, Paris

Mme Florence EUSTACHE - Médecin - CECOS, AP-HP, Hôpital Jean Verdier, Paris

M. René HABERT - Professeur des universités - Université Paris Diderot

Mme Brigitte LE MAGUERESSE-BATTISTONI - Directeur de Recherche – INSERM

Mme Sakina MHAOUTY- KODJA - Directeur de recherche – CNRS.

M. Christophe MINIER - Ecotoxicologue - Université du Havre

M. Luc MULTIGNER - Médecin épidémiologiste – INSERM

M. Henri SCHROEDER – Enseignant chercheur à l'URAFPA, INRA USC 340.

M. Patrick THONNEAU - Médecin - INSERM

Mme Catherine VIGUIE – Vétérinaire – Directrice de Recherche INRA

COMITE D'EXPERTS SPECIALISE

- CES « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » – 12 mars 2015.

Président

M. Michel GUERBET – Professeur de toxicologie à l'UFR médecine pharmacie de Rouen - Pharmacien toxicologue

Vice-président

M. Dominique LAFON – Médecin toxicologue, pilote de la thématique reproduction et travail à l'INRS – Médecine du travail, toxicologie, reprotoxicité

Membres

M. Marc BARIL - Professeur associé à l'Université de Montréal – Chimiste toxicologue, VLEP

M. Sylvain BILLET – Enseignant chercheur / maître de conférence en toxicologie à l'Université du Littoral Côte d'Opale – Toxicologie respiratoire, nanomatériaux

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

Mme Anne CHEVALIER – Epidémiologiste retraitée de l'Institut de Veille Sanitaire

M. François CLINARD – Epidémiologiste à l'Institut de Veille Sanitaire – Pharmacien toxicologue, épidémiologie, évaluation des risques sanitaires

Mme Fatiha EL-GHISSASSI – Scientifique, Section des Monographies de IARC (IMO) Centre International de Recherche sur le Cancer - Docteur es science en biochimie spécialiste en cancérogénèse et génotoxicité

Mme Mounia EL-YAMANI – Responsable d'unité à l'Institut de Veille sanitaire – Docteur es science en biochimie, toxicologie, VLEP

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

M. Guillaume GARCON – Professeur de toxicologie à l'Université de Lille 2 – Toxicologie générale, cancérologie, modèles expérimentaux, toxicologie respiratoire, pollution atmosphérique

M. Ludovic LE HEGARAT – Chef d'unité adjoint Toxicologie des contaminants - Anses – Laboratoire de Fougères- Toxicologie, génotoxicité, nanomatériaux

M. Karim MAGHNI – Professeur sous octroi agrégé à l'Université de Montréal – Toxicologie, immunologie, asthme, allergies, nanomatériaux

Mme Véronique MALARD – Ingénieur chercheur en toxicologie au Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives, Centre de Marcoule. – Toxicologie « *in vitro* », biologie cellulaire, nanotoxicologie, protéomique.

M. Fabrice MICHIELS – Médecin du travail / toxicologue au Service de santé des armées

M. Jean-Paul PAYAN – Chef du laboratoire Pénétration Cutanée, Cinétique et Métabolisme à l'INRS, Nancy – Pharmacien toxicologue, toxicocinétique

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

M. Alain SIMONNARD – Chef de département à l'INRS, Nancy - Pharmacien toxicologue, toxicologie générale et reprotoxicité, anatomopathologie

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

Mme Lydie SPARFEL – Professeur à l'Université de Rennes 1 / IRSET 'Institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail' UMR INSERM 1085– Pharmacien Toxicologue, immunotoxicologie, toxicogénomique, cancérologie, biologie cellulaire et moléculaire

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

GROUPE DE TRAVAIL « PERTURBATEURS ENDOCRINIENS ET REPROTOXIQUES DE CATEGORIE 3 »

Président

M. Claude EMOND – Université de Montréal, Canada

Vice-président

M. Luc BELZUNCES – Directeur de recherche – Laboratoire de Toxicologie Environnementale, UR 406 A&E, INRA

Membres

M. Jean-Philippe ANTIGNAC - Ingénieur analyste - ONIRIS, LABERCA

M. Brice APPENZELLER - Responsable de laboratoire de biomonitoring - Centre de Recherche Public en Santé, Luxembourg

M. Mohammed BENHAMED - Médecin - endocrinologue - toxicologue - INSERM. *Démission le 16 février 2013*

M. Nicolas BERTRAND - Ingénieur - INRS

M. Olivier BLANCHARD - Expologue - EHESP

Mme Martine CLAUW - Toxicologue-vétérinaire - INPT/ENVT, Université de Toulouse

M. Jean-Pierre CRAVEDI - Directeur de Recherche - INRA

Mme Elisabeth ELEFANT - Médecin spécialisé en tératologie humaine - Centre de référence sur les Agents tératogènes - AP-HP hôpital Armand Trousseau, Paris

Mme Florence EUSTACHE - Médecin - CECOS, AP-HP, Hôpital Jean Verdier, Paris

Mme Véronique EZRATTY - EDF, Médecin de l'Institut Gustave Roussy (Villejuif) et d'un service de prévention et de dépistage des tumeurs de la ville de Paris

Mme Joëlle FEVOTTE - Chercheur - UMRESTTE UCB Lyon 1. *Démission le 16 octobre 2013.*

M. René HABERT - Professeur des universités - Université Paris Diderot

Mme. Brigitte LE MAGUERESSE-BATTISTONI - Directeur de Recherche - INSERM

M. Frédéric LEMARCHAND - Analyse sociologique - Université de Caen. *Démission le 22 janvier 2013*

Mme Laura MAXIM - Chargée de recherche - CNRS

Mme Corinne MANDIN - Ingénieur expologue - CSTB

M. Christophe MINIER - Ecotoxicologue - Université du Havre
M. Luc MULTIGNER - Médecin épidémiologiste - INSERM
M. Alexandre PERY - Responsable d'unité - INERIS
M. Wilfried SANCHEZ - Ecotoxicologue - INERIS
Mme Anne STEENHOUT - Exposition agrégée - Université libre de Bruxelles, Belgique
Mme Larissa TAKSER - Médecin épidémiologiste - Université de Sherbrooke, Canada
M. Patrick THONNEAU - Médecin - INSERM
Mme Catherine VIGUIE – Vétérinaire – Directrice de Recherche INRA

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

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

- CES « Evaluation des risques liés aux substances chimiques »

Président

M. Michel GUERBET – Professeur de toxicologie à l'UFR médecine pharmacie de Rouen - Pharmacien toxicologue

Vice-Président

Mme Béatrice LAUBY-SECRETAN – Docteur en toxicologie, Scientifique pour monographies du CIRC – groupe IMO, CIRC/ OMS

Membres

M. Luc BELZUNCES – Directeur de Recherche - Laboratoire de Toxicologie Environnementale, UR 406 A&E, INRA

M. Damien BOURGEOIS – Chargé de Recherche – Institut de Chimie Séparative de Marcoule - CNRS

Mme Corinne CASSIER-CHAUVAT – Directrice de Recherche DR2 CNRS – iBiTecS/SBIGeM/LBI, unité mixte CEA-CNRS URA 2096

Mme Anne CHEVALIER – épidémiologiste retraitée - InVS

M. Pascal EMPEREUR-BISSONNET - Médecin, responsable de l'unité « Populations, Risques, Territoires » - Département Santé Environnement, InVS

Mme Brigitte ENRIQUEZ – Enseignant chercheur (Pr) Pharmacie – toxicologie / Responsable de la pharmacie centrale – Unité de Pharmacie Toxicologie, ENVA

Mme Dominique GUENOT – Chargée de recherche - CNRS

M. Cong Khanh HUYNH – Docteur es Sciences - Ingénieur chimiste – Institut universitaire Roman de Santé au Travail

M. Kannan KRISHNAN – Professeur, enseignant chercheur - Santé publique et Toxicologie - Département de Santé environnementale et de santé au travail, Université de Montréal – démission décembre 2012

M. Dominique LAFON – Médecin toxicologue, pilote de la thématique reproduction et travail– INRS

Mme Dominique LAGADIC-GOSSMANN – Directrice de Recherche CNRS – EA 4427 SeRAIC / IRSET, Université Rennes 1

Mme Annie LAUDET - Pharmacien toxicologue retraitée – INRS

Mme Florence MÉNÉTRIER – Responsable de l'unité Prositon / Pharmacien – DSV/Prositon, CEA

M. Fabrice MICHIELS – Médecin du travail, toxicologue – Service de santé des armées

Mme Odette PRAT - Chercheur Biologiste Toxicologue / Responsable Toxicogénomique - Institut de Biologie Environnementale et de Biotechnologie / DSV/ CEA

M. Henri SCHROEDER – Enseignant chercheur / Pharmacien biologiste – URAFPA, INRA USC 340, Faculté des Sciences et Technologies, Nancy université

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

M. François POUZAUD – Chef de projet scientifique - Anses

Contribution scientifique

Mme Aurélie MATHIEU-HUARD – Chargé de projet scientifique - Anses

M. François POUZAUD – Chef de projet scientifique - Anses

Secrétariat administratif

Mme Séverine BOIX-PETRE – Assistante – Anses

SOMMAIRE

2.1	Identité de la substance	14
2.2	Propriétés physico-chimiques du 4-nonylphénol	16
2.3	Réglementation et classification	16
2.4	Réglementation spécifique au 4-nonylphénol linéaire (n°CAS 104-40-5)	17
2.5	Réglementation applicable aux mélanges de nonylphénols (n°CAS : 25154-52-3) et au 4-nonylphénol ramifié (n°CAS : 84852-15-3)	18
3.1	Évaluation traitant du 4-nonylphénol (CAS 104-40-5)	21
3.2	Évaluation traitant d'autres nonylphénols	24
4.1	VTR établies par l'ex-Afsset (2009)	26
4.2	Autres VTR ou doses critiques permettant de calculer une marge d'exposition	28
4.2.1	VTR établie par le Danemark (2000).....	28
4.2.2	DNEL.....	31
4.2.3	NOAEL par Santé Canada (2001).....	32
4.2.4	NOAEL retenue par l'Union Européenne dans le Risk assessment report (2002).....	32
5.1	Toxicocinétique	34
5.1.1	Absorption.....	34
5.1.2	Distribution.....	35
5.1.3	Métabolisme.....	36
5.1.4	Élimination.....	36
5.2	Toxicité sur la reproduction et le développement	37
5.2.1	Effets sur la reproduction et la fertilité.....	37
5.2.1.1	Données humaines.....	37
5.2.1.2	Données animales.....	37
5.2.1.3	Données <i>in vitro</i>	48
5.2.2	Activité œstrogénique, androgénique et thyroïdienne.....	49
5.3	Toxicité dose répétées	51
5.3.1	Données humaines.....	51
5.3.2	Données animales.....	52
5.4	Toxicité chronique et cancérogénicité	53
5.5	Autres données	54

Abréviations

4-NP	4-nonylphénol
ACTH	Adrénocorticotrophine
ADN	Acide désoxyribonucléique
Afssa	Agence Française de Sécurité Sanitaire des aliments
Afsset	Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'environnement et du travail
ALP	Alcaline phosphatase
Anses	Agence Nationale de Sécurité Sanitaire
aP2	Adipocyte fatty acid binding protein-aP2
BKH	BKH consulting Engineers
BMD	Benchmark dose
BMDL	Limite inférieure de l'intervalle de confiance de la BMD à 95 %
BPL	Bonnes pratiques de laboratoire
DES	Diéthylstilbestrol
DL ₅₀	Dose Létale à 50 %
DMBA	7,12-diméthylbenz[a]anthracène
DNEL	Derived No Effect Level
ECB	European Chemicals Bureau
ECHA	Agence européenne des produits chimiques
EINECS	European INventory of Existing Commercial chemical Substances
GD	Jour de gestation (« Gestational Day »)
GerES	German Environmental Survey
GT	Groupe de Travail
hCG	Hormone Chorionique Gonadotrope
HPV	High Production Volume
INRS	Institut National de la Recherche Scientifique
INSERM	Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
InVS	Institut de Veille Sanitaire
IPCS	International Programme on Chemical Safety
IV	Intra-veineuse
JO	Journal officiel
Koc	Coefficient d'adsorption du sol
Kow	Coefficient de partage octanol-eau
LD	Limite de Détection
LH	Hormone Lutéinisante
LOEL	Dose minimale entraînant un effet observé (« Lowest Observed Effect Level »)

LOAEL	Dose minimale entraînant un effet néfaste observé (« Lowest Observed Adverse Effect Level »)
LQ	Limite de Quantification
LPL	Lipoprotéine lipase
MOS	Marge of safety
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NOAEL	Dose maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé (« No Observed Adverse Effect Level »)
NTP	National Toxicology Program
OCDE	Organisation de coopération et de développement économiques
OMS	Organisation mondiale de la santé
OQAI	Observatoire de la Qualité de l'Air Intérieur
PPAR	Peroxisome proliferator-activated receptor
PND	Jour post-natal (« PostNatal Day »)
RAR	Risk Assessment Report
REACH	Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals
RfD	Dose de référence
ROS	Espèce réactive de l'oxygène
SA	Substance active
SOD	Superoxyde dismutase
TDI	Tolerable daily intake (=Dose journalière tolérable (DJT))
TP	Type de produit
TSH	Thyroid Stimulating Hormone
UF	Facteur d'incertitude (« Uncertainty factor »)
UF _A	Facteur d'incertitude inter-espèce
UF _H	Facteur d'incertitude inter-individuel
UF _S	Facteur d'incertitude lié à la transposition subchronique à chronique
UF _L	Facteur d'incertitude lié à l'usage d'un LOAEL
UF _D	Facteur d'incertitude insuffisance de données
UBA	UmweltBundesAmt (The Germany Federal Environment Agency)
UE	Union Européenne
US EPA	United States Environmental Protection Agency
VTR	Valeur Toxicologique de Référence
YES	Yeast Estrogen Screen

Liste des tableaux

Tableau 1 : Identité de la substance _____	15
Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques du 4-nonylphénol _____	16
Tableau 3 : classification et étiquetage du nonylphénol (n°CAS : 25154-52-3) et du 4-NP ramifié (n°CAS : 84852-15-3) selon la directive 67/548/CEE et le règlement n°1272/2008 _____	19
Tableau IV : Données sur les effets perturbateurs endocriniens ayant permis la classification du mélange de nonylphénols à chaîne linéaire (n°CAS 25154-52-3) comme perturbateur endocrinien de catégorie 1 par la CE en 2000 _____	22
Tableau V : Données sur les effets perturbateurs endocriniens n'ayant pas permis la classification du 4-nonylphénol (n°CAS 104-40-5) _____	23
Tableau VI : VTR à seuil chronique par voie orale pour les nonylphénols ramifiés (Afsset, 2009) _____	27
Tableau VII : VTR à seuil chronique par voie orale pour les nonylphénols linéaires (Afsset, 2009) _____	28
Tableau VIII : VTR à seuil chronique par voie orale construite par l'EPA danoise en 2000 pour les nonylphénols à chaîne ramifiée _____	30
Tableau IX : DNEL travailleurs du mélange de nonylphénols ramifiés _____	31
Tableau X : DNEL population générale pour le mélange de nonylphénols ramifiés _____	31
Tableau XI : Études récentes testant les propriétés œstrogéniques du/des nonylphénol(s) _____	49
Tableau XII : Synthèse des résultats des tests de mutagénicité <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> _____	56
Tableau XIII : Concentrations en nonylphénol retrouvés dans différentes matrices _____	58
Tableau XIV : Tableau récapitulatif des doses critiques issues de données expérimentales _____	68

1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine

L'Anses a été saisie par la Direction générale de la Santé en date du 9 juin 2009 afin de réaliser une évaluation des risques pour la santé du consommateur en contact avec une liste de substances dites perturbatrices endocriniennes ou reprotoxiques de catégorie 3. A cette date, la réglementation applicable en termes de classification et étiquetage des substances dangereuses était la directive européenne 67/548/CEE¹.

En 2008, le règlement CLP ²(règlement (CE) n°1272/2008 du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008 (JOUE L 353 du 31 décembre 2008)) a introduit dans l'Union européenne le nouveau système général harmonisé de classification et d'étiquetage ou SGH. La classification et l'étiquetage des substances, harmonisés selon les deux systèmes (règlement et directive 67/548/CEE) figurent dans l'annexe VI dudit règlement CLP et coexistent jusqu'en 2015. Le règlement CLP remplace la classification préexistante des substances CMR par une nouvelle classification. Ainsi les anciennes catégories 1,2 ou 3 pour les CMR de la directive 67/548/CEE sont remplacées par les catégories 1A, 1B ou 2.

De même, le terme « préparation » utilisé dans la directive 67/548/CEE est remplacé par le terme « mélange » dans le règlement CLP. Par conséquent la classification et les termes utilisés dans les différents documents, rapports, notes d'expertise collective et avis, sont ceux en vigueur dans le cadre du règlement CLP n° 1272/2008.

Stratégie de recherche

Afin d'évaluer la toxicité du 4-nonylphénol, notamment sur la fonction de reproduction et la fonction endocrine, l'Anses a conduit une recherche bibliographique (cf. Annexe 1, liste des sites consultés).

Les articles répertoriés ont été répartis de la manière suivante :

- articles rapportant les résultats d'études épidémiologiques ou des études de cas chez l'homme : « données humaines »

¹ Directive Européenne 67/548/CEE du 27 juin 1967 du Conseil concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses

² Classification, Labelling and Packaging

- articles rapportant les résultats d'études expérimentales réalisées sur l'animal de laboratoire et apportant des informations sur les effets potentiels de la substance sur la fonction de reproduction et la fonction endocrine (par exemple, études de reprotoxicité, de toxicité chronique ou subchronique, de cancérogenèse) : « étude *in vivo* »
- articles rapportant les résultats d'études *in vitro* (modèles cellulaires, organotypiques,...) ou *in silico* (QSAR...) susceptibles d'apporter des informations sur le mécanisme d'action de la substance en lien avec les effets potentiels de la substance sur la fonction de reproduction et la fonction endocrine : « étude *in vitro* »

Par ailleurs, en plus des études publiées dans la littérature, l'Anses a pu avoir accès à certains rapports d'études soumis dans un cadre réglementaire (REACH, Biocide,...). Ces études sont soumises à confidentialité ; elles sont citées et décrites dans cette fiche.

Les rapports d' « études *in vivo* » ont été analysés selon une grille de lecture commune préalablement établie et validée par le groupe de travail.

2 Identification de la substance

Cette substance entre dans le champ de la saisine de par sa classification en tant que potentiel perturbateur endocrinien ; le 4-nonylphénol linéaire (4-NP) est classé perturbateur endocrinien de catégorie 1 (PE 1) selon les données européennes du DHI (DHI, 2007).

Dans les conditions normales de température et de pression, le 4-NP est un produit stable qui se présente sous la forme d'un liquide jaune-pâle visqueux, modérément volatil et d'odeur légèrement phénolique (Ashford*, 2001 ; Kirk et Othmer*, 2007)³.

2.1 Identité de la substance

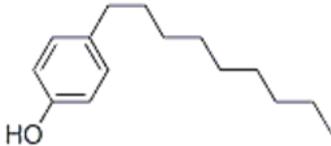
Le terme nonylphénol recouvre un grand nombre de molécules différentes de formule brute $C_6H_4(OH)C_9H_{19}$. Présents sous forme de mélanges, ces isomères se distinguent par le type de ramification et la position du radical nonyl sur le noyau phénolique. La majorité des isomères employés sont des 4-nonylphénols. En fonction de la forme linéaire ou ramifiée de la chaîne alkyl et de leur présence sous forme de mélanges, leur identification par n° CAS est la suivante (INRS, 2006) :

- **CAS n°104-40-5** : Il s'agit d'une molécule unique, le 4-nonylphénol linéaire ou 4-n-nonylphénol (4-NP).
- **CAS n°84852-15-3** : Mélange de nonylphénols à chaînes ramifiées, toutes en position para, correspondant à la principale proportion des nonylphénols industriels, et désigné sous le terme de 4-nonylphénol ramifié. La composition de ces mélanges n'est pas définie de façon précise.
- **CAS n°25154-52-3** : Mélange d'isomères de position dont la chaîne alkylée est linéaire, incluant le 4-nonylphénol linéaire (104-40-5), désigné de façon générique sous le terme « nonylphénol ». La composition de ces mélanges n'est pas définie de façon précise.
- **CAS n°90481-04-2** : Mélange d'isomères de position dont la chaîne alkylée est ramifiée.

En termes de données sur leurs utilisations, il est souvent difficile de différencier les isomères entrant dans la composition des mélanges commerciaux. En l'absence d'informations spécifiques au 4-NP linéaire, la recherche bibliographique repose sur les utilisations des mélanges d'isomères, en particulier du mélange d'isomères à chaîne alkyl linéaire (CAS n°25154-52-3), désigné par soucis de clarté sous le terme générique « nonylphénol » (NP) et du 4-nonylphénol ramifié (CAS n°84852-15-3). A noter que les éthoxylates de nonylphénol (NPE) ne sont pas considérés dans ce profil toxicologique.

³ Les références annotées du symbole « * » sont extraites d'une étude réalisée pour le compte de l'Anses et dans le cadre strict de la saisine par le prestataire extérieur Néodyme

Tableau 1 : Identité de la substance

IDENTIFICATION DE LA SUBSTANCE	
Numéros CAS	104-40-5
Numéro CE (EINECS)	203-199-4
Nom	4- nonylphénol 4-NP
Synonymes	p-nonylphenol para-nonylphénol N-nonylphenol
Famille chimique	Alkylphénols
Formule brute	$C_{15}H_{24}O$
Formule développée	

2.2 Propriétés physico-chimiques du 4-nonylphénol

Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques du 4-nonylphénol

Paramètre	Valeur	Valeurs expérimentales ou modélisées	Sources ⁴
Forme physique (à T° ambiante)	Liquide jaune pâle visqueux	-	[1] [2]
Masse Molaire (g.mol ⁻¹)	220,34	Non précisé	[1] [2] [3]
Point d'ébullition (°C) (Préciser la pression)	293 à 324	Non précisé	[1] [3]
Point de fusion (°C)	42 à 44	Non précisé	[1] [3]
Point éclair (°C)	141 à 155°C	Données expérimentales	[4][5]
Limite inférieure d'explosivité (LIE)	Le nonylphénol n'a pas de limite d'explosivité dans les conditions standards de température et de pression, au regard de sa structure moléculaire	-	[5]
Limite supérieure d'explosivité (LSE)			
Pression de vapeur saturante (Pa)	0,11 à 25°C	Non précisé	[1] [2]
Concentration à saturation (mg.m ⁻³)	9,7 à 25°C	Calculée	Calculée à partir de [1] [2]
Densité vapeur (air = 1)	7,6 à 25°C	Non précisé	[4]
Densité liquide	0,937 à 25°C	Non précisé	[3]
Facteur de conversion à 25°C	1 ppm = 9 mg.m ⁻³	Non précisé	[4]
Solubilité dans l'eau	7 10 ⁻³ g.L ⁻¹ à 25°C	Non précisé	[1] [2]
Log Kow	5,76	Non précisé	[1] [2]
Koc (L.kg ⁻¹)	60890	Non précisé	[1]

Nota bene : Les références bibliographiques [1], [2] et [3] concernent spécifiquement le 4-NP linéaire. Les références [4] et [5] concernent les nonylphénols en général ou le 4-nonylphénol ramifié.

2.3 Réglementation et classification

Outre les données spécifiques au 4-NP linéaire, la réglementation applicable aux mélanges de nonylphénols linéaires concerne également cet isomère qui entre dans leur composition.

⁴ [1] DHI, Study on enhancing the endocrine disrupter priority list with a focus on low production volume chemicals, 2007. <http://www.ec.europa.eu>. [2] HSDB (Hazardous Substance Data Bank) - 4-nonylphénol - Chemical/Physical Properties. Dernière révision : 14/02/2003. <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>. [3] Site internet "ChemGuide". 4-Nonylphénol. Date de consultation : 10/2010 www.chemguideeurope.com. [4] Fiche toxicologique FT249 «NONYLPHENOL et 4-NONYLPHENOL RAMIFIE ». INRS. Edition 2006. [5] European Union Risk Assessment Report- 4.nonylphenol (branched) and nonylphenol. http://ecb.jrc.it/Documents/Existing-Chemicals/RISK_ASSESSMENT/REPORT/4-nonylphenol_nonylphenolreport017.pdf.

2.4 Réglementation spécifique au 4-nonylphénol linéaire (n°CAS 104-40-5)

Le 4-NP est concerné par les réglementations suivantes :

- la directive 67/548/CEE et règlement (CE) n° 1272/2008 ou CLP ;
- le règlement REACH n° 1907/2006 ;
- Le règlement (CE) n°689/2008 du 17 juin 2008 concernant les exportations et importations des produits chimiques dangereux dit « règlement PIC » (Prior Informed Consent).

▪ La directive 67/548/CEE du 27 juin 1997, concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses, et le Règlement (CE) n° 1272/2008 ou CLP (Classification, Labelling, Packaging) du 16 décembre 2008 concernant la classification, l'étiquetage et l'emballage des substances dangereuses.

Le 4-nonylphénol n'a pas de classification harmonisée. Cependant, dans le cadre du règlement CLP, les fabricants et importateurs doivent notifier les classifications et étiquetages des substances qu'ils mettent sur le marché (articles 39 à 42 du règlement CLP). Toutes ces notifications sont regroupées dans une base de données qui est l'inventaire des classifications et étiquetages, tenu par l'ECHA⁵. Cette notification s'applique à toutes les substances mises sur le marché dans l'UE :

- si elles sont classées dangereuses, quelles que soient les quantités ;
- si elles ne sont pas classées « dangereuses » mais soumises à l'obligation d'enregistrement conformément au règlement REACH.

Bien qu'il ne s'agisse pas de la classification harmonisée, cet inventaire constitue une source centrale d'informations sur la classification et l'étiquetage des substances pour tous les utilisateurs de produits chimiques.

Attention, tous les notifiants n'ont pas forcément classé cette substance avec toutes ces classes de danger. Il s'agit d'une compilation des différentes classifications proposées par un ou plusieurs déclarants.

Les différentes classifications sont :

- **H302** : Nocif en cas d'ingestion.
- **H314** : Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.
- **H318** : Provoque des lésions oculaires graves.
- **H361** : Susceptible de nuire à la fertilité ou au fœtus.
- **H400** : Très toxique pour les organismes aquatiques.
- **H410** : Très toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.
- **H332** : Nocif par inhalation.

⁵ <http://echa.europa.eu/fr/information-on-chemicals/cl-inventory-database>

- **H411** : Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.
- **H312** : Nocif par contact cutané.

- Le règlement REACH (Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals) (CE) n°1907/2006 du 18 décembre 2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances

Le 4-nonylphénol linéaire, le 4-nonylphénol ramifié, les nonylphénols ainsi que les éthoxylates de nonylphénol (NPE) sont inscrits à la liste candidate des substances soumises à autorisation (annexe XIV de REACH relative à l'autorisation).

- Le règlement (CE) n°689/2008 du 17 juin 2008 concernant les exportations et importations des produits chimiques dangereux dit « règlement PIC » (Prior Informed Consent).

Le 4-NP linéaire figure dans la partie I de l'annexe I du règlement qui liste les substances chimiques soumises à la procédure de notification d'exportation. A ce titre, tout exportateur informe chaque année l'autorité nationale de l'Etat membre des quantités de 4-NP (sous forme d'ingrédient, de mélange ou d'article) qu'il a expédié au cours de l'année précédente. Il en va de même pour les importateurs de 4-NP.

2.5 Réglementation applicable aux mélanges de nonylphénols (n°CAS : 25154-52-3) et au 4-nonylphénol ramifié (n°CAS : 84852-15-3)

Les nonylphénols sont également étiquetés PE de catégorie 1 selon les données du BKH (BKH, 2000).

Les mélange de nonylphénols et le 4-NP ramifié sont concernés par :

- La directive 67/548/CEE du 27 juin 1997 et le règlement (CE) n°1272/2008 ou règlement CLP (Classification, labelling, packaging) du 16 décembre 2008 concernant la classification, l'étiquetage et l'emballage des substances dangereuses.

Dans le cadre de la mise en place du Système global harmonisé (SGH), le règlement (CE) n° 1272/2008 ou CLP définit au sein de l'Union européenne les obligations concernant la classification, l'étiquetage et l'emballage des substances et des mélanges. Le classement des substances dangereuses qui figurait dans l'annexe I de la Directive 67/548/CEE figure désormais dans l'annexe VI du règlement CLP. A ce titre, le nonylphénol et le 4-NP ramifié sont classés toxiques pour la reproduction de catégorie 2.

Tableau 3 : classification et étiquetage du nonylphénol (n°CAS : 25154-52-3) et du 4-NP ramifié (n°CAS : 84852-15-3) selon la directive 67/548/CEE et le règlement n°1272/2008

	Classification	Limites de concentration spécifiques	Symboles de danger
Règlement (CE) n°1272/2008	H361fd H302 H314 H400 H410	-	    GHS08 GHS07 GHS05 GHS09
Directive 67/548/CEE	Repr. Cat. 3; R62-63 Xn; R22 C; R34 N; R50-53	-	 

- Le Règlement REACH (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals) (CE) n° 1907/2006 du 18 décembre 2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances.

Le 4-nonylphénol linéaire, le 4-nonylphénol ramifié, les nonylphénols ainsi que les éthoxylates de nonylphénol (NPE) sont inscrits à la liste candidate des substances soumises à autorisation (annexe XIV de REACH relative à l'autorisation).

Limitation de la mise sur le marché et de l'emploi du nonylphénol et des éthoxylates de nonylphénol :

Le nonylphénol et les NPE sont inscrits à l'annexe XVII de REACH relative aux restrictions d'usage de certaines substances. Ils ne peuvent pas être mis sur le marché ou utilisés, comme substances ou mélanges à des concentrations égales ou supérieures à 0,1% en poids pour les usages suivants :

- Nettoyage industriels et institutionnel, sauf :
 - Les systèmes fermés et contrôlés de nettoyage à sec dans lesquels le liquide de nettoyage est recyclé ou incinéré,
 - Les systèmes de nettoyage avec traitement spécial dans lesquels le liquide de nettoyage est recyclé ou incinéré ;
- Nettoyage domestique ;
- Traitement des textiles et du cuir, sauf :
 - Traitement sans rejet dans les eaux usées,
 - Systèmes comportant un traitement spécial dans lequel l'eau utilisée est prétraitée afin de supprimer totalement la fraction organique avant le traitement biologique des eaux usées (dégraissage de peaux de mouton) ;
- Emulsifiant dans les produits agricoles de traitement par immersion des trayons ;
- Usinage des métaux, sauf :

- Utilisation dans le cadre de systèmes fermés et contrôlés dans lesquels le liquide de nettoyage est recyclé ou incinéré ;
- 6. Fabrication de pâte à papier et de papier ;
- 7. Produits cosmétiques ;
- 8. Autres produits d'hygiène corporelle, à l'exception des spermicides ;
- 9. Coformulants dans les pesticides et biocides. Toutefois, les autorisations nationales de produits phytopharmaceutiques et de produits biocides contenant de l'éthoxylate de nonylphénol en tant que coformulant accordées avant le 17 juillet 2003 ne sont pas affectées par la restriction jusqu'à date de leur expiration.

Ces dispositions sont appliquées depuis le 17 janvier 2005.

Le 29 juillet 2013, la Suède a déposé auprès de l'ECHA une nouvelle demande de restriction concernant la mise sur le marché de textiles (vêtements, accessoires et textiles d'intérieur) contenant des nonylphénols (isomères linéaires et ramifiés) et des NPE et pouvant être lavés à l'eau. L'utilisation des nonylphénols et de leurs éthoxylates dans l'industrie textiles en Europe fait déjà l'objet de restrictions depuis 2005. Cette nouvelle demande de restriction complète la précédente puisqu'elle inclut la mise sur le marché de textiles importés depuis des pays non concernés par la précédente restriction.

Enfin le 4 nonylphénol ramifié a été inclus dans le CoRAP, avec la Grande Bretagne comme état membre rapporteur pour des suspicions d'effets PBT (persistant, bio-accumulable, toxique) et usages dispersifs.

- Le règlement (CE) n°689/2008 du 17 juin 2008 concernant les exportations et importations de produits chimiques dangereux dit « règlement PIC », au même titre que le 4-NP linéaire.
- Le règlement CE n° 1223/2009 du Parlement européen et du Conseil du 30 novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques.

Les nonylphénols et le 4-NP ramifié figurent dans l'annexe II du règlement (CE) n°1223/2009 qui liste les substances interdites dans les produits cosmétiques.

3 Evaluations européennes ou internationales

Les nonylphénols n'ont pas été traités par l'expertise collective INSERM « Reproduction et environnement » (INSERM, 2011).

3.1 Évaluation traitant du 4-nonylphénol (CAS 104-40-5)

Le DHI a classé le 4-nonylphénol (n°CAS 104-40-5) comme perturbateur de catégorie 1 (au moins une étude *in vivo* fournissant une preuve claire d'une perturbation endocrinienne chez un organisme intact) (DHI, 2007). Les études ayant permis le classement sont les suivantes :

- Étude *in vivo* chez le rat a mis en évidence une augmentation significative du poids absolu et relatif de l'utérus à 90 et 120 mg.kg⁻¹ (relation dose-réponse observée). LOAEL = 90 mg.kg⁻¹ → classement en catégorie 1 pour la santé humaine ;
Étude *in vivo* chez le poisson Medaka (*Oryzias latipes*) a mis en évidence une augmentation de la vitellogénine (LOEC = 24,8 µg.L⁻¹) → classement en catégorie 1 pour l'environnement.

En 2000, le BKH a classé le mélange de nonylphénols à chaîne linéaire (n°CAS 25154-52-3) en catégorie 1⁶ sur la base :

- d'une étude mettant en évidence une augmentation de vitellogénine chez le poisson mais à de fortes doses (Nimrod *et al.*, 1997⁷), signant un effet potentiel de perturbateur endocrinien (CE, 2002) (truite arc en ciel : synthèse de vitellogénine (LOEC : 20,3 µg.L⁻¹) ; altération de la croissance testiculaire (LOEC : 54,3 µg.L⁻¹) (Jobling *et al.*, 1996) ; Corophium : effets sur les caractéristiques sexuels mâles secondaires (50 et 100 µg.L⁻¹) (Brown *et al.*, 1999)) ;
- d'essais utérotophiques chez le rat (CE, 2002 ; Odum *et al.*, 1997 ; Ashby *et al.*, 1997).

L'ensemble de ces données permet d'apporter une preuve de perturbation endocrinienne chez des organismes vivants (Tableau IV) (CE, 2000).

⁶ « At least one study providing evidence of endocrine disruption in an intact organism. Not a formal weight of evidence approach »

⁷ Nimrod, Alison C. and William H. Benson. Xenobiotic Interaction with and Alteration of Channel Catfish Estrogen Receptor. *Toxicology and Applied Pharmacology* 147, 381-390, 1997.

Tableau IV : Données sur les effets perturbateurs endocriniens ayant permis la classification du mélange de nonylphénols à chaîne linéaire (n°CAS 25154-52-3) comme perturbateur endocrinien de catégorie 1 par la CE en 2000

Test type	Class	Species /Receptor	Exposure route	Criterion	Dose-conc	Unit/Dose/Conc	Effect	Potency	RefID	Source	RECNO
In vitro	+e	Human, embryonal kidney 293 cells	water		1000	nM	Luciferase reporter gene induction	0.62	kui98		wh063
In vitro	+e	Human; MCF-7 cells	medium	LOEC	10 ⁻¹³	M	Increased cell proliferation		Jon97		Fh304
In vitro	+e	Insect cell line Sf9	water	IC50			Solid phase RBA-assay for human ER-alfa	< 0.0005	kui98		wh061
In vitro	+e	Insect cell line Sf9	water	IC50			Solid phase RBA-assay for human ER-beta	< 0.0009	kui98		wh062
in vivo	+e	Ictalurus punctatus, m/f, 250-300 g	intraperitoneal	EC		60.5	mg/kg bwght.day increased vitellogenin and number of ER and Kd in liver cytosol males; increased vitellogenin in females		Nim97	GR99	Oe047

Tableau V : Données sur les effets perturbateurs endocriniens n'ayant pas permis la classification du 4-nonylphénol (n°CAS 104-40-5)

Test type	Class	Species /Receptor	Exposure route	Criterion	Dose-conc	Unit/Dose/Conc	Effect	Potency	RefID	Source	RECNO
4-Nonylphenol (4-NP)											
In vivo	+e	Mouse	subcutaneous	LOEL	>=100	mg/kg	increased uterus weight		she96	UBA98	Gh201
In vivo	+e	Rat		LOEL	20	mg/kg	stimulation of proliferation		sot91	UBA98	Gh199
In vivo	+e	Rat	intraperitoneal	LOEL	<=20	mg/kg	increased uterus weight		lee96	UBA98	Gh200
In vivo	+e	Rat	subcutaneous	LOEL	370	mg/kg body weight	higher endometrial mitotic index		sot91	SEPA98	Gh496
In vitro	+e	Human serum		LOEL	100	µM	reduce specific binding of DHT to the protein SHBG (sex-hormone binding globulin)		dan97		Gh567
In vitro	+e	Human; MCF-7 cells					stimulation of proliferation		Sot95	UK98	Oh024
In vitro	+e	Human; MCF-7 cells	Serum free medium	IC50	2.74	µM	Binding affinity for estrogen receptors	0.00020	Nag97		wh007
In vitro	+e	Human; MCF-7 cells	Human male serum	IC50	39.4	µM	Binding affinity for estrogen receptors	0.00010	Nag97		wh011
In vitro	+e	Human; MCF-7 cells		LOEC	8	µg/l	increased cell proliferation	0.000125	Han98		wh019
In vitro	+e	Human; MCF-7 cells					stimulation of proliferation		sot91	UBA98	Gh198
In vitro	+e	Human; MCF-7 cells					binding affinity	0.00021	sot95	UBA98	Gh209
In vitro	+e	Human; MCF-7 cells		LOEL	1	µM	stimulation of cell proliferation	0.00003	sot95	UBA98	Gh214
In vitro	+e	Human; MCF-7 cells		LOEL	10	µM	stimulation of cell proliferation	0.000003	sot95	UBA98	Gh215
In vitro	+e	Human; MCF-7 cells		EC100	10	µM	increased cell proliferation	0.000003	sot92	UBA98	Gh421
In vitro	+e	Human; MCF-7 cells		EC100	1	µM	increased cell proliferation	0.00003	sot92	UBA98	Gh422
In vitro	+e	Human; MCF-7 cells		EC100	0,01	µM	increased cell proliferation	0.001	vil95	UBA98	Gh423
In vitro	+e	Rabbit; uteri cells		LOEL	100	µM	inhibition of estradiol binding to the estrogen receptor		dan97		Gh549
In vitro	-e	Rat; prostate cells		NOEL	100	µM	specific binding of 5-a-DHT(dihydrotestosterone) to the androgen receptor		dan97		Gh557
In vitro	+e	Yeast	water	LOEC	20	µg/l	Binding affinity for estrogen receptors	0.00015	Rou96		wh006
In vitro	+e	Yeast transfected		EC50	4	µM	stimulation of estrogen-dependent transcription	0.0001	rou96	UBA98	Gh222
	+e	rat	subcutaneous	LOEL	370	mg/kg body weight	decreased testis weight and sperm count		sot91	SEPA98	Gh497
in vivo	+e	Atlantic salmon	injection			125	mg/kg	induced of vitellogenin mRNA	aru97	SEPA98	Ge037
in vivo	+y	Daphnia magna, female		LC50		50-100	µg/l	50% decreased live offspring after chronic exposure (3 weeks)	bal97		We122
in vivo	+e	Daphnia magna, female)				100	µg/l	Accumulation of testosterone after acute exposure (48 hr)	bal97		We121
in vitro	+e	Oncorhynchus mykiss				30	µg/l	increased plasma vitellogenin level	har95	UBA98	Ge003
in vitro	+e	Rainbow trout		LOEC		14	µg/l	Vitellogenin production in hepatocytes	Han98		We002
in vitro	+e	Salmo gairdneri		EC50		14.14	µg/l	increased vitellogenin synthesis	ren96	UBA98	Ge006
in vitro	+e	Salmo gairdneri				10	µM	induced of vitellogenin mRNA	flo95	SEPA98	Ge036
in vitro	+e	Salmo sp.		LOEC		10	µM	increased vitellogenin synthesis	job93	UBA98	Ge017

Ces données n'ont pas été évaluées en 2000 par les experts du BKH.

En 2000, le BKH avait jugé les données sur le 4-NP (n°CAS 104-40-5) insuffisantes pour l'évaluer (Tableau V). En 2002, le BKH a réévalué ce nonylphénol et l'a classé comme perturbateur endocrinien de catégorie 1 et l'a placé dans le groupe II⁸. Lorsque le rapport a été soumis à commentaires, certains experts ont souligné le fait qu'il devrait être reclassé en groupe I car largement retrouvé dans l'environnement (CE, 2002a).

3.2 Évaluation traitant d'autres nonylphénols

De nombreux organismes ont réalisés des synthèses sur les nonylphénols, en particulier sur les mélanges de nonylphénols à chaîne linéaire et ramifié (n° CAS 84852-15-3 et 25154-52-3) :

- Santé Canada, 2001 ;
- CE, 2002b : risk assessment report ;
- US EPA, 2005 : rapport relatif aux effets des nonylphénols sur la faune aquatique ;
- INRS, 2006 : fiche toxicologique sur le nonylphénol et le 4-nonylphénol ramifié
- US EPA, 2009 : screening-level hazard characterization – alkylphenols category : *p*-nonylphenol (n°CAS 84852-15-3).

Les principales conclusions du **rapport d'évaluation européen** concernant les effets sur la santé sont les suivantes (CE, 2002b) :

- Les nonylphénols liquides sont corrosifs pour la peau et entraînent des irritations oculaires sévères chez l'animal. L'exposition à des vapeurs de nonylphénol entraîne une irritation du tractus respiratoire chez la souris.
- Plusieurs tests de sensibilisation avec maximisation chez le cochon d'Inde suggèrent que les nonylphénols ne présentent pas de potentiel sensibilisant cutané significatif.
- Suite à une exposition chronique par voie orale, des effets rénaux (modifications histopathologiques) ont été observés chez le rat à 15 mg.kg⁻¹.j⁻¹ (NTP, 1997 cité dans CE, 2002b ; étude multigénération). A 140 mg.kg⁻¹.j⁻¹, des modifications histopathologiques hépatiques mineures ont également été observées dans des études par voie orale (Hüls, 1989 cité dans CE, 2002b). Enfin, des effets sur les glandes mammaires ont été mis en évidence chez des rats Noble suite à une exposition sous-cutanée à 0,05 mg.kg⁻¹.j⁻¹ mais n'ont pas été reproduits dans une étude similaire avec le même protocole (Colerange et Roy, 1996 ; Ashby et Odum, 1998 cité dans CE, 2002b).
- Le nonylphénol n'est pas mutagène.
- La possibilité que le nonylphénol soit un cancérigène agissant par un mécanisme non génotoxique est considérée comme peu préoccupante.
- Toxicité sur la reproduction :
 - o Les études *in vitro* et *in vivo* (tests utéro-trophiques) montrent que le nonylphénol a une activité œstrogénique 10³ à 10⁶ fois moins forte que l'œstradiol.

Une étude multigénération a mis en évidence des perturbations mineures du système reproducteur de la descendance mâle et femelle compatibles avec une activité œstrogénique (modifications

⁸ « Expected Medium exposure concern »

légères de la longueur du cycle œstral, du moment de l'ouverture vaginal, du poids des ovaires chez les femelles, du nombre de spermatozoïdes et de spermatides chez les mâles ; NOAEL = 15 mg.kg⁻¹.j⁻¹) (NTP, 1997 cité dans CE, 2002b). Une toxicité testiculaire a également été mise en évidence à des niveaux de doses où des mortalités sont en lieu (LOAEL = 100 mg.kg⁻¹.j⁻¹) (De Jager *et al.*, 1999 cité dans CE, 2002b).

- Pas de preuve d'effet sur le développement.

4 Valeurs toxicologiques de référence et marge de sécurité

4.1 VTR établies par l'ex-Afsset (2009)

L'Agence a construit des valeurs toxicologiques de référence (VTR) à seuil par voie orale pour les nonylphénols linéaires et ramifiés (Afsset, 2009).

- **VTR pour les nonylphénols ramifiés**

Une VTR subchronique par voie orale a été proposée pour les nonylphénols ramifiés (n°CAS 90481-04-2 et 84852-15-3) (Tableau VI) (cf : annexe 2).

Les nonylphénols présentent une activité œstrogénique aussi bien dans les études *in vitro* qu'*in vivo*. Les effets sur la glande mammaire sont compatibles avec l'activité œstrogénique mise en évidence et semblent être le marqueur le plus sensible puisqu'ils sont observés aux doses les plus faibles (LOAEL = 10 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹).

Ces effets ont été mis en évidence dans l'étude de Moon *et al.* (Moon *et al.*, 2007). Moon *et al.* ont exposé des rats Long Evans par voie orale à un mélange d'isomères ramifiés du nonylphénol (mélange de composés ramifiés dont 85% d'isomères *para*) aux doses de 0, 10 et 100 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ et ont étudié le développement de la glande mammaire. Les mères ont été exposées du 15^{ème} au 19^{ème} jour de la gestation et les effets ont été observés chez les femelles F1 au 4^{ème}, 22^{ème}, 33^{ème}, 41^{ème} et 66^{ème} jour post-natal. A 100 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, les effets observés sont une augmentation du poids utérin (PND41), une augmentation du taux de branchement des canaux primaires en canaux secondaires (PND4), une augmentation du nombre de bourgeons alvéolaires et une différenciation des bourgeons de l'extrémité terminale en bourgeons alvéolaires (PND33). Dès 10 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, il a été observé une diminution des branchements primaires du canal collecteur de la glande mammaire et un retard dans la migration de l'épithélium mammaire vers le nœud lymphatique (PND22). Des effets endocriniens ont été aussi observés à PND41 avec une baisse de la LH pituitaire, une augmentation du nombre de récepteurs de l'œstrogène dans le stroma et l'épithélium des glandes mammaires et dans l'utérus et une augmentation du nombre de récepteurs de la prolactine dans les glandes mammaires à la dose de 100 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. Il peut être également noté une augmentation du nombre de récepteurs de la progestérone dans l'épithélium des glandes mammaires et dans l'utérus à 10 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ et une diminution à 100 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. A 10 et 100 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, une baisse de la TSH pituitaire est observée. Ainsi, en tenant compte de tous ces effets, un LOAEL de 10 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ peut être proposé.

Un facteur d'incertitude global de 300 a été appliqué à la dose critique de 10 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ : 10 pour la variabilité inter-espèces, 10 pour la variabilité intra-espèce et 3 pour l'utilisation d'un LOAEL.

Tableau VI : VTR à seuil chronique par voie orale pour les nonylphénols ramifiés (Afsset, 2009)

Effet critique	Dose critique*	UF**	VTR
Effets sur le développement de la glande mammaire Étude de toxicité sur le développement par voie orale chez le rat Long Evans Moon <i>et al.</i> , 2007	LOAEL = 10 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ Pas de construction de BMDL	300 UF _A 10 UF _H 10 UF _L 3	VTR = 0,03 mg.kg⁻¹.j⁻¹

*Facteurs de conversion temporels, coefficients allométriques : NÉANT.

** UF : facteur d'incertitude, UF_A : facteur d'incertitude inter-espèces, UF_H : facteur d'incertitude intra-espèces, UF_L : facteur d'incertitude pour l'utilisation d'un LOAEL

• VTR pour les nonylphénols linéaires

La VTR subchronique par voie orale pour le nonylphénol linéaire s'applique pour le 4-NP (n°CAS 104-40-5) et le mélange d'isomères dont la chaîne alkyle est linéaire (n°CAS 25154-52-3) (Tableau VII) (cf : annexe 3).

Les nonylphénols linéaires ont montré aussi bien dans les études *in vivo* qu'*in vitro* une activité œstrogénique. Les études multigénérationnelles de bonne qualité scientifique mettent en évidence des effets sur l'ouverture vaginale et les ovaires dès 50 mg/kg pc/j, sans modification fonctionnelle de la reproduction. Ces effets sont compatibles avec l'activité œstrogénique mise en évidence et peuvent être retenus comme effet critique.

L'étude de Nagao *et al.* (2001) est retenue comme étude clé pour construire la VTR (Nagao *et al.*, 2001). Nagao *et al.* ont exposé sur 2 générations des rats Sprague-Dawley (n = 25/sexe/groupe) à un mélange d'isomères linéaires du nonylphénol (n°CAS 25154-52-3) par gavage aux doses de 0, 2, 10 et 50 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. Chez la génération F0 à la plus forte dose, une augmentation significative du poids du foie (relatif) et des reins (relatif et absolu) associée à des modifications histologiques (hypertrophie centrolobulaire, inclusions éosinophiles) a été mise en évidence. Chez les femelles F0 et F1, une diminution significative du poids absolu et relatif des ovaires est observée à 50 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ sans atteinte histologique associée. Chez les femelles F1, une diminution statistiquement significative de la LH sérique (5,5 ng.mL⁻¹ vs 7,2 ng.mL⁻¹ chez les témoins, p<0,05) et une ouverture vaginale précoce (PND 31,5 en moyenne vs PND 33,4 chez les témoins, p<0,01) sont observées à la plus forte dose testée. Une diminution statistiquement significative (p<0,05) du nombre de petits par portée (11,5 vs 13,5 en moyenne chez les témoins) et du nombre de sites d'implantation (12,5 vs 14,9 en moyenne chez les témoins) est observée à 50 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ dans la génération F2. Une augmentation significative des niveaux de testostérone chez les mâles et du poids de l'utérus chez les femelles de la génération parentale (F0) est reportée à 2 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, mais n'est pas observée aux doses supérieures. Une augmentation significative du poids de la prostate chez les mâles avant sevrage et une diminution significative des niveaux de FSH chez les mâles adultes sont observés à 2 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ dans la génération F1 (non observés à 10 et 50 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹).

Ainsi, cette étude met en évidence une activité œstrogénique chez les rates F1 exposées au mélange de nonylphénols à chaîne linéaire, et plus particulièrement une diminution de la LH

sérique et du poids des ovaires ainsi que l'ouverture vaginale précoce à 50 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, dose correspondant au LOAEL. La dose critique retenue est le NOAEL de 10 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ proposé par les auteurs.

Un facteur d'incertitude global de 300 a été appliqué à la dose critique de 10 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ : 10 pour la variabilité inter-espèces, 10 pour la variabilité intra-espèce et 3 pour l'insuffisance de données (dans l'étude de Nagao *et al.* ont été étudiés de nombreux effets mais pas ceux sur la glande mammaire). Ces effets semblent pourtant apparaître à des niveaux beaucoup plus faibles, de l'ordre de 10 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ comme le montre l'étude de Moon *et al.*, 2007 sur le nonylphénol ramifié).

Tableau VII : VTR à seuil chronique par voie orale pour les nonylphénols linéaires (Afsset, 2009)

Effet critique	Dose critique*	UF**	VTR
Diminution LH sérique, ouverture vaginale précoce (F1) Étude de toxicité par gavage sur deux générations chez des rats Sprague-Dawley Nagao <i>et al.</i> , 2001	LOAEL = 50 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ NOAEL = 10 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ Pas de construction de BMDL	300 UF _A 10 UF _H 10 UF _D 3	VTR = 0,03 mg.kg⁻¹.j⁻¹

*Facteurs de conversion temporels, coefficients allométriques : NÉANT.

** UF : facteur d'incertitude, UF_A : facteur d'incertitude inter-espèces, UF_H : facteur d'incertitude intra-espèces, UF_D : insuffisance de données

4.2 Autres VTR ou doses critiques permettant de calculer une marge d'exposition

4.2.1 VTR établie par le Danemark (2000)

En 2000, le EPA danoise a établi une VTR chronique par voie orale (TDI = Tolerable Dose Intake) pour le mélange de nonylphénols à chaîne ramifié (n°CAS 84852-15-3) (Danish EPA, 2000).

Choix de l'étude clé et de la dose critique :

L'EPA danoise a identifié 2 études doses répétées de bonne qualité mettant en évidence des NOAEL :

- Une étude 28 jours (OCDE 407) chez le rat Sprague-Dawley exposé à 0, 25, 100 ou 400 mg.kg⁻¹.j⁻¹ de nonylphénol (forme non précisée) *via* l'alimentation (Hüls, 1989). Les auteurs ont mis en évidence à la plus forte dose une diminution significative du poids corporel et de la consommation de nourriture. Une augmentation significative du poids relatif des reins, du foie et des testicules, une augmentation significative des niveaux sanguins de cholestérol et d'urée et une diminution significative de la glycémie ont été observées à 400 mg.kg⁻¹.j⁻¹ uniquement chez les mâles. L'examen histopathologique a mis en évidence une accumulation de gouttelettes hyalines dans les tubules rénaux proximaux et une vacuolisation mineure des hépatocytes périportaux. Un NOAEL de 100 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ est identifié ;

- Une étude de toxicité à dose répétée (90 jours) (BPL, guideline US EPA) conduite chez le rat Sprague-Dawley exposés *via* l'alimentation à 0, 15, 50 ou 150 mg.kg⁻¹.j⁻¹ à un mélange de nonylphénols à chaîne ramifiée (n°CAS 84852-15-3) (Cunny *et al.*, 1997). A la plus forte dose, une diminution significative du gain de poids et de la prise alimentaire a été observée chez les 2 sexes. Chez les mâles, une augmentation significative des poids relatif et absolu des reins sans signes histopathologiques a été observée à la plus forte concentration (une diminution de l'occurrence des gouttelettes hyalines était observée à 150 mg.kg⁻¹.j⁻¹). Un NOAEL de 50 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ a été identifié par les auteurs.

Dans une étude sur 3 générations de bonne qualité (NTP, 1997), une augmentation de l'incidence de la dégénérescence et/ou de la dilatation tubulaire rénale a été mise en évidence chez des rats Sprague-Dawley exposés à un mélange de nonylphénols à chaîne ramifiée (n°CAS 84852-15-3) dans le but d'identifier un NOAEL. Il n'a pas été possible de déterminer si les effets rénaux étaient ou non liés aux nonylphénols car ces effets n'ont pas été observés dans l'étude de 90 jours et car la relation dose-réponse n'était pas observée chez toutes les générations chez les mâles et les femelles. Le manque de cohérence entre les études ne peut pas s'expliquer ni par la faible durée de l'étude multigénérationnelle car les effets rénaux sont visibles à la 3^{ème} génération qui n'a été exposée que 8 semaines, ni par une exposition *in utero* et néonatale car les effets apparaissent dès la génération F0. De plus, l'augmentation de l'incidence de la dégénérescence et/ou de la dilatation tubulaire rénale étant observée chez les 4 générations, l'EPA danoise pense que ces atteintes rénales pourraient avoir une autre origine que le traitement. L'étude NTP sur 3 générations montre une forte incidence des modifications rénales indiquant que l'effet pourrait être plus prononcé après une exposition pendant plusieurs générations. De ce fait, l'EPA danoise conclut à un LOEL de 15 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour une exposition répétée sur la base des modifications histopathologiques rénales. Le Danish EPA ne considère pas ces effets comme sévères car la dégénération et/ou la dilatation tubulaire rénale sont des effets communément observés chez les rats témoins et ne sont pas accompagnés d'autres signes cliniques.

Il a été mis en évidence dans des études *in vivo* et *in vitro* que les nonylphénols, comme d'autres alkylphénols, miment les effets des œstrogènes. Les nonylphénols ont montré des résultats positifs dans des tests utérotrophiques que ce soit chez des rats Wistar immatures, des rats Sprague-Dawley immatures et des rats Sprague-Dawley ovariectomisés. Bien que le test utérotrophique soit un test standard pour les effets œstrogéniques, la signification de ce test pour la santé humaine n'a pas été établie. Dans les études sur 28 jours et 90 jours, des examens des organes sexuels ont été réalisés. La morphologie des organes sexuels, le cycle œstral et la qualité du sperme n'ont pas été affectés par l'exposition aux nonylphénols. Le poids absolu des ovaires a été faiblement diminué dans le groupe exposé aux plus fortes doses. Le poids relatif des ovaires quant à lui n'a pas été modifié et aucune modification histopathologique n'a été observée. Le nonylphénol n'a pas induit d'effet sur les autres organes pouvant être affectés par les œstrogènes tels que l'hypophyse, la glande mammaire ou l'endomètre. Il a été conclu que, même si les nonylphénols pouvaient posséder une activité œstrogénique, ils n'entraîneraient pas d'effet sur les paramètres biologiques communément associés avec une activité œstrogénique à la plus forte dose utilisée (dose entraînant des effets de toxicité générale chez le rat). Cependant, les résultats de l'étude 3 générations indiquent que les effets sur les paramètres de la reproduction pourraient survenir à des doses de 15 mg/kg pc/j. Chez les femelles, des accélérations de la maturation sexuelle, augmentation de la durée du cycle œstral et des diminutions du poids des ovaires ont été

observés tandis que les mâles présentent une réduction du nombre de spermatozoïdes. Ces effets ont été observés dans au moins une des 3 générations successives.

En conclusion, l'EPA danoise retient une dose critique (LOAEL) de $15 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ sur la base des effets sur la reproduction et le développement mis en évidence dans l'étude sur 3 générations. Elle précise que cette dose peut aussi être considérée comme un LOEL pour les effets rénaux identifiés également dans cette étude sur 3 générations.

Hypothèse : seuil

Application de facteur d'incertitude :

- $UF_A = 10$: Homme est plus sensible que l'animal
- $UF_H = 10$ pour protéger les individus les plus sensibles de la population
- $UF_L \times UF_D = 30$ pour l'utilisation d'un LOAEL et le manque de données sur la génotoxicité et la cancérogénicité

Tableau VIII : VTR à seuil chronique par voie orale construite par l'EPA danoise en 2000 pour les nonylphénols à chaîne ramifiée

Effet critique	Dose critique	UF*	VTR
Effets sur la reproduction et le développement Étude de toxicité sur 3 générations chez des rats Sprague-Dawley NTP, 1997	LOAEL = $15 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$	3000 UF_A 10 UF_H 10 $UF_L \times UF_D$ 30	VTR = $0,005 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$

* UF : facteur d'incertitude, UF_A : facteur d'incertitude inter-espèces, UF_H : facteur d'incertitude intra-espèces, UF_D : insuffisance de données

L'EPA danoise a également calculé une valeur limite dans l'air (LV_{air}) réalisant une extrapolation voie à voie à partir de la VTR voie orale précédemment citée :

$$\text{VTR par inhalation} = (\text{VTR voie orale} \times 70 \text{ kg}) / 20 \text{ m}^3/\text{j} = \mathbf{0,017 \text{ mg/m}^3}$$

4.2.2 DNEL

Pour les travailleurs, des DNEL ont été élaborées pour le mélange de nonylphénols à chaîne ramifiée (n°CAS 84852-15-3) (Echa Chem, 2012) (Tableau IX).

Tableau IX : DNEL travailleurs du mélange de nonylphénols ramifiés

Endpoint	Dose critique ou autre information	
	Effet local	Effet systémique
Exposition aiguë / court terme		
Cutanée	Pas de seuil d'effet et/ou pas d'information sur la relation dose-réponse	15 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹
Inhalation		1 mg.m ⁻³
Exposition long terme		
Cutanée	Pas de seuil d'effet et/ou pas d'information sur la relation dose-réponse	7,5 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹
Inhalation		0,5 mg.m ⁻³

Les études clés et les effets critiques ne sont pas précisées.

Des DNEL pour le mélange de nonylphénols à chaîne ramifiée (n°CAS 84852-15-3) ont été également élaborées pour la population générale (Echa Chem, 2012) (Tableau X).

Tableau X : DNEL population générale pour le mélange de nonylphénols ramifiés

Endpoint	Dose critique ou autre information	
	Effet local	Effet systémique
Exposition aiguë / court terme		
Cutanée	Pas de seuil d'effet et/ou pas d'information sur la relation dose-réponse	7,6 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹
Inhalation		0,8 mg.m ⁻³
Orale		0,4 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹
Exposition long terme		
Cutanée	Pas de seuil d'effet et/ou pas d'information sur la relation dose-réponse	3,8 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹
Inhalation		0,4 mg.m ⁻³
Orale		0,08 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹

Les études clés et les effets critiques ne sont pas précisées.

4.2.3 NOAEL par Santé Canada (2001)

En 2001, Santé Canada a identifié un LOEL afin de calculer une marge de sécurité lors de son évaluation des risques préliminaire pour la santé humaine pour les nonylphénols (n°CAS 84852-15-3 et 25154-52-3) (Santé Canada, 2001). Le plus faible LOEL identifié était de 12-18 mg/kg/j et correspondait à l'intervalle des doses moyennes d'un mélange de nonylphénols à chaîne ramifiée (n°CAS 84852-15-3) administrées dans l'alimentation de rats mâles dans une étude sur la reproduction sur 3 générations où une dilatation des tubules médullaires rénaux et la formation de kystes ont été observées à chaque génération (NTP, 1997). Cette étude n'a pas permis d'identifier de NOEL. Les modifications histopathologiques observées au niveau des tubules rénaux sont les seuls effets clairement liés aux nonylphénols à cette dose et n'ont pas affecté la masse corporelle, la consommation alimentaire, divers paramètres de la reproduction et du développement, le poids ou l'histopathologie d'un certain nombre d'organes.

L'étude de Cunny *et al.* réalisée chez la même souche de rat, aux mêmes doses de nonylphénols ramifiés (n°CAS 84852-15-3) et sur la même durée d'exposition (la durée correspond à l'exposition des F0 de l'étude du NTP) n'a pas mis en évidence ces lésions rénales (Cunny *et al.*, 1997). La gravité des lésions rénales observées dans l'étude multigénération de Chapin *et al.* a été qualifiée de minime à modérée, même aux doses les plus élevées. Selon les auteurs, il s'agit d'une faible accélération de la néphropathie tubulaire normalement constatée chez cette souche de rats (Chapin *et al.*, 1999).

En outre, dans l'étude de Cunny *et al.* (1997), il n'y a pas eu, à cette dose, d'effet sur la teneur sanguine en azote uréique ou en créatinine, ce qui porte à croire que la fonction rénale n'a pas été touchée (mais aucune analyse d'urine n'a été effectuée dans les études mentionnées et la teneur plasmatique en urée n'est pas un symptôme sensible d'une néphropathie).

Sur la base des considérations décrites ci-dessus, il est donc probable que le **LOEL** de **12 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹** soit proche du NOAEL pour les effets rénaux. En conséquence, Santé Canada considère ce LOEL approprié pour déterminer la marge d'exposition dans leur évaluation préliminaire.

4.2.4 NOAEL retenue par l'Union Européenne dans le Risk assessment report (2002)

En 2002, l'Union européenne a identifié plusieurs NOAEL/LOAEL afin de calculer des marges de sécurité chez les consommateurs pour les nonylphénols (n°CAS 84852-15-3 et 25154-52-3) (CE, 2002b).

Les doses critiques retenues sont les suivantes :

- Pour la toxicité aiguë : $DL_{50} = 1200-2400 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ (Berol Kemi AB 1982, Hüls AG 1981 ; ICI, 1984) ;
- Pour l'irritation du tractus respiratoire : LOAEL = 400 ppm (3636 mg.m⁻³), NOAEL = 30 ppm (267 mg.m⁻³) (ICI, 1995) ;
- Pour la toxicité répétée : LOAEL systémique = 15 mg.kg⁻¹.j⁻¹ pour des lésions histopathologiques rénales (NTP, 1997) ;
- Pour les effets reprotoxiques : NOAEL systémique = 15 mg.kg⁻¹.j⁻¹ Les effets adverses observés sont chez la femelle, une faible modification de la longueur du cycle œstral, de

l'ouverture vaginale, et du poids des ovaires, et chez les mâles, une altération du compte spermatique (NTP, 1997).

L'Union Européenne a retenu les taux d'absorption suivants :

- 10% par voie orale,
- 100% par inhalation,
- 10% par contact cutané.

Trois scénarii d'exposition ont été considérés pour les consommateurs en fonction des expositions identifiées : pesticides, teintures pour cheveux et *via* les matériaux en contact avec l'alimentation.

En considérant le cumul de ces expositions chez les consommateurs, les risques sont faibles.

- Effets aigus : $MOS_{cumulée} : >3.10^5$
- Effets chroniques : $MOS_{cumulée} : 2500$
- Effets reprotoxiques : $MOS_{cumulée} : 2500$

5 Toxicité

La toxicocinétique et les effets toxicologiques décrits ci-dessous concernent l'ensemble de la famille des nonylphénols.

5.1 Toxicocinétique

La plupart des données sur la toxicocinétique des nonylphénols concerne la voie orale et est basée sur un nombre limité de publications réalisées chez l'Homme et le rat. Celles-ci sont supportées par des données sur l'octylphénol qui possède une structure chimique proche des nonylphénols (CE, 2002b).

5.1.1 Absorption

Chez l'animal, l'absorption par le tractus gastro-intestinal est rapide et importante (Green *et al.*, 2003 ; Doerge *et al.*, 2002). Les pics plasmatique et sanguin du 4-NP sont atteints 30 min après une exposition unique de 10 mg.kg⁻¹ par voie orale chez les rats Sprague-Dawley mâles et 1 h chez les femelles. Pour des expositions plus élevées (100 mg.kg⁻¹), le pic sanguin est atteint 6 h après l'exposition chez les mâles et entre 1 et 9 h chez les femelles (Green *et al.*, 2003). Lors d'une exposition répétée (10 mg.kg⁻¹.j⁻¹ pendant 14 jours), la concentration plasmatique observée le premier jour double les 7 premiers jours puis se stabilise. La concentration dans le tissu adipeux augmente 4-5 fois pendant ce temps mais ne représente après 14 jours que 0,06% de la quantité excrétée ce jour (Green *et al.*, 2003).

Chez l'Homme, l'absorption est également rapide. Chez un volontaire, les concentrations de nonylphénol et de nonylphénol conjugué atteignent un pic sanguin 1 h après une exposition unique par voie orale de 5 mg (86 ng.g⁻¹ de sang pour le nonylphénol conjugué, 100 fois plus que pour le nonylphénol non conjugué) (Müller *et al.*, 1997 cité dans CE, 2002b). Une exposition unique par voie intra-veineuse (IV) de 1 mg chez un volontaire entraîne un pic sanguin de nonylphénol (0,6 ng.g⁻¹) et de nonylphénol conjugué (0,2 ng.g⁻¹) au bout de 30 min. La comparaison des AUC (aire sous la courbe) pour les voies orale et IV suggère une biodisponibilité du nonylphénol d'environ 20%. Du fait d'un effet de premier passage hépatique, la biodisponibilité du nonylphénol non conjugué est probablement limitée suite à une exposition par voie orale (<20% de la dose). Dans le Risk assessment report (RAR), un taux d'absorption de 100% est retenu avec une biodisponibilité de 10% (CE, 2002b).

Par voie respiratoire, aucune donnée n'est disponible. Cependant, sur la base des données existantes pour la voie orale et le fort coefficient de partition octanol-eau (log Kow), il est prudent de considérer une forte absorption par inhalation (100% par défaut) (CE, 2002b).

Par voie cutanée, les études *in vitro* indiquent que la pénétration cutanée⁹ est légèrement plus importante que l'absorption (3% de la dose chez le porc, 6% de la dose chez le rat, 4% de la dose

⁹ Entrée d'une substance dans la couche cornée de la peau (diffusion passive).

chez l'Homme). L'absorption¹⁰ du nonylphénol par la peau est faible que ce soit avec la peau de porc, de rat (<0,15% de la dose) ou humaine (0,1%). Le nonylphénol reste dans le stratum corneum (2% de la dose chez le porc, 0,5% chez le rat (Monteiro-Riviere *et al.*, 2000 cité dans CE, 2002b) et 1,7% dans la peau humaine). Les études *in vitro* réalisées par Moody *et al.* sur la peau humaine (sein) indiquent que l'absorption de 4-NP est plus importante par rapport à l'étude de Monteiro-Riviere *et al.* (8,5% dans Moody *et al.*, 2009 ; 15,6% dans Moody *et al.*, 2010 vs 0,1% dans Monteiro-Riviere *et al.*, 2000). Les auteurs expliquent ces différences du fait de la différence de protocole expérimental (notamment par l'utilisation de peau humaine d'épaisseur différente). Le RAR a retenu un taux d'absorption de 10% (valeur par défaut) (CE, 2002b).

5.1.2 Distribution

Chez l'Homme comme chez l'animal, le nonylphénol est largement distribué dans le corps, et principalement dans les graisses (CE, 2002b).

Après une exposition de 5 mg.kg⁻¹, 0,4% du nonylphénol était présent dans les tissus, 1,3% dans le tractus gastro-intestinal et 1,3% dans la carcasse de rats Sprague-Dawley (Fennell et MacNeela, 1997 cité dans CE, 2002b).

Le nonylphénol total a été dosé dans différents tissus (foie, reins, cerveau, sein, utérus et ovaire, testicules et prostate) chez des rats Sprague-Dawley exposés pendant 4 semaines via l'alimentation à 750 ppm (équivalent à 45 mg.kg⁻¹.j⁻¹) de nonylphénol (95% d'isomères ramifiés de 4-NP et 5% d'isomères ramifiés de 2-NP) (Doerge *et al.*, 2002).

Le nonylphénol a été retrouvé chez les rats mâles et femelles dans le foie (♂ 2,6 nmol.g⁻¹, ♀ 8,1 nmol/g), les reins (♂ 2,1 nmol.g⁻¹, ♀ 2,41 nmol.g⁻¹) et le cerveau (♂ 0,42 nmol.g⁻¹, ♀ 1,4 nmol/g). Les organes reproducteurs ne contenaient que des faibles quantités de NP sauf au niveau de la prostate (0,82 nmol.g⁻¹).

Zalko *et al.* ont investigué la distribution du 3H-4-NP chez des rats Wistar exposés par voie orale à 1 µg.kg⁻¹.j⁻¹ ou 10 mg.kg⁻¹.j⁻¹ pendant 4 jours (Zalko *et al.*, 2003). Au bout de 4 jours, le 3H-4-NP administré à la dose de 1 µg/kg/j a été détecté principalement dans le tractus digestif (♂ 0,73 µg.kg⁻¹, ♀ 0,58 µg/kg) dans le foie (♂ 0,22 µg.kg⁻¹, ♀ 0,17 µg.kg⁻¹) et les reins (♂ 0,2 µg.kg⁻¹, ♀ 0,16 µg.kg⁻¹) et dans une moindre mesure dans le sang, le cerveau, les ovaires et testicules, la graisse, la carcasse et les muscles. La répartition du 3H-4-NP est la même chez les rats exposés à la plus forte dose, mais les concentrations retrouvées sont 10 000 fois plus importantes de l'ordre du ratio entre les doses utilisées (10 000 fois).

Les doses rapportées représentent la somme de 4-NP et métabolites exprimés en µg d'équivalent nonylphénol par Kg de tissu frais.

Balakrishnan *et al.* ont réalisé une étude *ex vivo* sur des placentas de femmes en bonne santé. Ceux-ci étaient perfusés 180 min avec 250 µL de perfusat contenant du 4-NP (30 ng.mL⁻¹) (Balakrishnan *et al.*, 2011). Le 4-nonylphénol passerait la barrière placentaire. De plus, chez

¹⁰ Comprend la pénétration cutanée, la perméation (migration d'une couche à l'autre) et la résorption (passage dans la circulation sanguine) d'une substance chimique au travers de la peau.

l'Homme, les niveaux circulants de 4-nonylphénol dans le sang maternel et le sang de cordon indiqueraient un passage placentaire potentiel : 1,51 mg.L⁻¹ dans du sang maternel et 1,12 mg.L⁻¹ (taux de détection de 56,7%) dans le sang de cordon (Lin et al., 2008 abstract) et 5,68 ng.g⁻¹ dans le sang maternel et 2,95 ng.g⁻¹ dans le sang de cordon (taux de détection de 52,4%) (Chen et al., 2008).

Doerge *et al.* ont exposé *via* l'alimentation des rates gestantes (jusqu'à PND 140) Sprague-Dawley (n=3, GD20 environ) à 50 mg.kg⁻¹ d'un mélange de nonylphénols à chaîne ramifiée (95% d'isomères ramifiés du 4-NP et 5% d'isomères ramifiés de 2-NP). Les auteurs ont mis en évidence ce mélange de nonylphénols dans le sérum du fœtus (4,3-8,0 µmol.L⁻¹ dont 13% sous forme aglycone) et le cerveau (1,4-2,2 pmol.mg⁻¹ de cerveau, soit 322-506 µg.kg⁻¹, dont 79% sous forme aglycone) (Doerge *et al.*, 2002). En revanche, Zalko *et al.* ont trouvé des quantités relativement faibles de ³H-4-NP (moy 0,12 µg.kg⁻¹) chez le fœtus, dans le placenta et l'utérus suite à l'exposition de rates Wistar gestantes (n = 3) de GD3 à GD19 à 0,649 µg.kg⁻¹.j⁻¹ en moyenne (Zalko *et al.*, 2003). Les doses rapportées représentent la somme de 4-NP et métabolites exprimés en µg d'équivalent nonylphénol par Kg de tissu frais.

5.1.3 Métabolisme

Le nonylphénol subit un effet de premier passage hépatique important.

Le métabolisme principal passe par une glucurono- et une sulfo-conjugaison. D'autres voies de métabolisation existent pour la chaîne alkyle.

Zalko *et al.* ont exposé des rats Wistar par voie orale à 1 µg.kg⁻¹.j⁻¹ ou 10 mg.kg⁻¹.j⁻¹ de ³H-4-NP linéaire pendant 4 jours et ont étudié le métabolisme et les métabolites existants. Environ 10 métabolites différents ont été mis en évidence, formés suite à une ω-oxydation, puis une β-oxydation suivi par une sulfo- ou une glucurono-conjugaison. Cette voie métabolique entraîne principalement la formation d'acide para-hydroxybenzoïque et de son dérivé sulfate éliminés dans les urines. Chez le rat, il semblerait que la sulfoconjugaison prédomine par rapport à la glucuroconjugaison et qu'elle soit plus prononcée chez le mâle que chez la femelle. La seconde voie métabolique est une hydroxylation de la chaîne alkyle suivie par une glucuronoconjugaison du groupement hydroxyle phénolique. Les métabolites ainsi formés sont principalement éliminés au niveau des fèces (Zalko *et al.*, 2003).

Green *et al.* ont mis en évidence des différences de métabolisation du 4n-NP (CAS 84852-15-3) entre les rats mâles et femelles. Le nonylphénol serait métabolisé plus intensément chez les rats mâles que chez les femelles avec la mise en évidence de métabolites dans les fèces, l'urine et la bile qui n'ont pas été mis en évidence chez les femelles (Green *et al.*, 2003).

5.1.4 Élimination

Chez le rat Sprague-Dawley, l'excrétion est complète 4 jours après une exposition unique par gavage à 5 ou 200 mg.kg⁻¹. Elle se fait essentiellement *via* les fèces (70%) mais également *via* les urines (5-20%). Il n'y a pas d'élimination par l'air exhalé (CE, 2002b).

Chez des rats Sprague-Dawley exposés par gavage ou par voie intraveineuse à du 4n-NP, l'excrétion est rapide : plus de 75% de la dose administrée est éliminée en 24 h, principalement dans les fèces (Green *et al.*, 2003). Dans les fèces, on trouve du 4-nonylphénol glucurono-

conjugué et du 4-nonylphénol inchangé, ce dernier provenant probablement soit d'une interaction avec l'aliment, soit d'une déglucuronidation enzymatique intestinale (il n'a pas été montré de cycle entérohépatique pour cette substance) (INRS, 2006).

Le nonylphénol peut également être éliminé dans les urines. Il est essentiellement retrouvé dans l'urine de rat femelle sous forme de 4-nonylphénol inchangé et/ou conjugué. Le métabolisme comprend d'une part la conjugaison de la fonction alcool et d'autre part l'oxydation de la chaîne alkyle (Zalko et al, 2003). Certains auteurs ont noté des différences qualitatives entre mâle et femelle dans les métabolites formés (Green *et al.*, 2003).

Chez l'Homme (1 volontaire), 10% de la dose orale (5 mg, dose unique) sont éliminés dans l'urine, sous forme conjuguée ou non, dans les 8 premières heures. Seul 1,5 % de la dose sont éliminés par les fèces en 56 h (Müller, 1997 cité dans CE, 2002b).

5.2 Toxicité sur la reproduction et le développement

Seules les études postérieures à la construction des VTR établies par l'Agence ont été détaillées dans ce profil toxicologique en ce qui concerne les effets reprotoxiques afin de voir si elles peuvent conduire à revoir les VTR.

En ce qui concerne les effets perturbateurs endocriniens, seules les études publiées depuis le Risk Assessment Report sont décrites.

5.2.1 Effets sur la reproduction et la fertilité

5.2.1.1 Données humaines

Des niveaux importants d'exposition en nonylphénol ont été retrouvés dans la population taïwanaise. Chen *et al.* ont analysé les concentrations urinaires en 4-NP de 786 écoliers entre 10 et 15 ans et étudié l'association avec le développement de caractères sexuels secondaires (questionnaire) (Chen *et al.*, 2009). Du 4-NP a été détecté dans 30% des échantillons (<1,62 - 178,25 µg.g⁻¹ créat.). Une apparition précoce des règles a été observée chez 15% des jeunes filles de l'étude (moy d'âge 11,54 ans). Après ajustement sur l'âge et l'index de masse corporel, la dose interne de 4-NP était inversement associée à l'âge d'apparition des premières règles.

5.2.1.2 Données animales

• Effets sur l'appareil reproducteur femelle

Des effets sur l'appareil reproducteur femelle en péri- ou post-natal (Nagao *et al.*, 2001 : exposition à partir de 2 semaines avant la gestation jusqu'à PND13 ; Laws *et al.*, 2000 : PND21-33 (doses injectées) ; Kim *et al.*, 2002 : PND20-22 ; ou plusieurs générations (Chapin *et al.*, 1999 : études sur 3 générations) ont été mis en évidence chez des rats Sprague-Dawley exposés par voie orale à au moins 50 mg.kg⁻¹.j⁻¹ de nonylphénol :

- Une ouverture vaginale précoce (Nagao *et al.*, 2001 ; Laws *et al.*, 2000 ; Kim *et al.*, 2002) ;
- Une modification de la durée du cycle œstral (Chapin *et al.*, 1999 : allongement du cycle œstral à 160 mg.kg⁻¹.j⁻¹ chez les générations F1 et F2 ; Laws *et al.*, 2000 : diminution du nombre de jours du cycle œstral à 100 mg/kg ; Kim *et al.*, 2002 : augmentation significative du nombre de jours de diestrus entre le jour de l'ouverture vaginale et PND32 à 50 et 100 mg.kg⁻¹ ; PND32 correspondant chez les témoins au jour de l'ouverture vaginale) ;

- Une diminution du poids absolu et relatif des ovaires sans atteinte histologique associée (Chapin *et al.*, 1999 ; Nagao *et al.*, 2001 ; Kim *et al.*, 2002).
- Une diminution des niveaux sériques de LH (Nagao *et al.*, 2001).

Une diminution statistiquement significative du nombre de petits par portée et du nombre de sites d'implantation est observée chez des rats de la génération F2 exposés à 50 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ de 4-NP (n°CAS 104-40-5) (Nagao *et al.*, 2001).

Chez la souris ICR, Kimura *et al.* ont exposé par injection sous-cutanée de GD5 à GD20 à 0, DL₅₀/1000, DL₅₀/100 et DL₅₀/10 d'un mélange de 4-nonylphénols à chaînes ramifiées, soit 0 - 1,231 -12,31 et 123,1 mg.kg⁻¹ (Kimura *et al.*, 2006). Une diminution dose dépendante du poids corporel a été observée chez les mâles F1 à toutes les doses, ainsi qu'une diminution significative du poids absolu du foie et des testicules. Chez les femelles F1, une augmentation du poids des ovaires a été mise en évidence à toutes les doses mais sans relation dose-réponse. Aucun effet sur la taille des portées, le sexe ratio ou la durée de gestation n'a été rapporté. Une augmentation de la mortalité des fœtus et des embryons a aussi été mise en évidence à 12,31 mg.kg⁻¹ chez les femelles et 1,231 mg.kg⁻¹ chez les mâles.

Plusieurs études ont mis en évidence des effets sur la glande mammaire. Colerange et Roy (1996) ont analysé l'influence du nonylphénol par voie sous cutanée sur la prolifération et le développement alvéolaire de la glande mammaire de jeunes rats Noble (4-5 semaines). L'administration de nonylphénol aux doses de 0,01 et 7 mg/animal/jour (doses estimées 0,073 et 53,2 mg/kg pc/j) pendant 11 jours induit une augmentation de la prolifération cellulaire mammaire (200 % et 400 % à faible et forte doses, respectivement), avec une augmentation de la phase S du cycle cellulaire dans les cellules épithéliales par rapport aux animaux contrôles (Colerange and Roy, 1996). Le nonylphénol produit des mutations de l'ADN et des anomalies chromosomiques (Banerjee and Roy 1996). Le nonylphénol pourrait générer une instabilité chromosomique et augmenter le risque de développer des lésions néoplasiques. Cependant dans l'étude de Colerange, la plus faible dose de nonylphénol active dans la glande mammaire (0.073 mg/kg/j) apparaissait approximativement 600 fois plus faible que la plus faible dose active dans le test utéro-trophique sur 3 jours (40 mg/kg/j). Odum et al. ont repris cette expérimentation chez le rat Noble avec le même protocole sans confirmer les résultats de Colerange et Roy sur la glande mammaire, alors que le DES induit toujours une croissance mammaire et une prolifération cellulaire (Odum et al., 1999a cité dans CE, 2002b). Ces mêmes auteurs ont montré par ailleurs une sensibilité identique du nonylphénol dans le test utéro-trophique dans deux souches de rat différentes (Noble rat et Alderley Park) (Odum et al. 1999a). La même équipe a alors réalisé une étude sur la souche de rat Alderley Park et une exposition par voie orale ou par mini-pompe osmotique (Odum et al., 1999b). Aucun effet sur la glande mammaire n'a été observé chez les rats exposés par mini-pompe tandis qu'une augmentation de la différenciation et de la prolifération cellulaire au niveau de la glande mammaire a été mise en évidence chez les rats exposés par voie orale à 100 mg.kg⁻¹.j⁻¹. Moon *et al.* en 2007 ont étudié le développement de la glande mammaire chez des rats Long Evans exposés in utero (GD15 à GD19) par voie orale à un mélange d'isomères ramifiés du nonylphénol (contenant 85% d'isomère para) (0, 10 et 100 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹). Une augmentation du poids utérin relatif (humide et tamponné) est observée au jour 41 à la plus

forte dose de nonylphenol (100 mg/kg pc/jour), sans changement du poids des autres organes. Le nonylphenol à la plus forte dose est responsable d'un développement précoce de la glande mammaire par rapport aux animaux contrôles. Les différents effets observés sont les suivants : - une forte augmentation du taux de branchements des canaux primaires en canaux secondaires après la naissance (PND4) – au jour 22 (PND22) il n'existe plus de différence dans la croissance et le développement mammaire chez les animaux exposés et contrôles, en particulier la prolifération épithéliale est similaire au niveau des bourgeons terminaux dénommés TEBs, responsables de l'élongation des canaux et des branchements dans la glande mammaire; -durant la puberté, au jour 33 (PND33), les glandes mammaires de rat exposés au nonylphénol présentent une augmentation du nombre de bourgeons alvéolaires (AB) et une bonne différenciation des TEBs en AB. Ces observations indiquent un effet du nonylphénol sur le développement précoce de la glande mammaire (Moon et al., 2007).

• Effets sur l'appareil reproducteur mâle

Plusieurs études chez différentes souches de rat exposées en pré et/ou post-natale (De Jagger *et al.*, 1999 a et b ; Hossaini *et al.*, 2001 ; Fan *et al.*, 2001 résumé ; Tan *et al.*, 2003 ; Han *et al.*, 2004 ; Zhang *et al.*, 2003 et 2006 résumé ; Qiu *et al.*, 2005 résumé ; McClusky *et al.*, 2007 ; Aydogan *et al.*, 2010 ; Jie *et al.*, 2010 ; Aly *et al.*, 2012) ou sur plusieurs générations (NTP, 1997 ; Chapin *et al.*, 1999 ; De Jagger *et al.* 1999a ; Mehranjani *et al.*, 2009) ont décrit des effets sur l'appareil reproducteur mâle à partir de $15 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ tels que :

- une diminution du poids des testicules, de l'épididyme, de la prostate (Chapin *et al.*, 1999 ; De Jagger *et al.*, 1999 a et b ; Hossaini *et al.*, 2001 ; Fan *et al.*, 2001 résumé ; Han *et al.*, 2004 ; Woo *et al.*, 2007 ; Jie *et al.*, 2010 ; Aly *et al.*, 2012),
- des altérations de la spermatogénèse avec une atteinte de la production spermatique (atrophie séminifère, débris de cellules germinales, lésions des tubes séminifères, dégénération et congestion des spermatocytes, réduction du diamètre des tubes séminifères, diminution de l'épaisseur de l'épithélium basal, diminution significative du nombre de cellules de Sertoli, diminution de la densité spermatique épидидymaires et du nombre des spermatides, diminution de la production journalière de spermatozoïdes testiculaires dans les testicules, de la motilité des spermatozoïdes et de la production spermatique, augmentation du pourcentage de spermatozoïdes anormaux) (Jagger *et al.*, 1999 a et b ; Tan *et al.*, 2003 ; Han *et al.*, 2004 ; Qiu *et al.*, 2005 résumé ; Zhang *et al.*, 2003 et 2006 résumé ; McClusky *et al.*, 2007 ; Woo *et al.*, 2007 ; Mehranjani *et al.*, 2009 ; Aydogan *et al.*, 2010 ; De Jie *et al.*, 2010 ; Aly *et al.*, 2012),
- des lésions de la prostate (atrophie, congestion) (Aydogan *et al.*, 2010),
- une descente testiculaire précoce (Chapin *et al.*, 1999),
- une diminution des niveaux sériques de testostérone à PND2 (Laurenzana *et al.*, 2002, Han *et al.*, 2004 ; Qiu *et al.*, 2005 résumé) .

Des rats adultes Wistar ont été exposés par gavage à 0, 100, 200 ou 300 $\text{mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ de 4-NP dissous dans de l'huile de maïs pendant 30 jours (Aly *et al.*, 2012). Une diminution significative du poids absolu des testicules et de l'épididyme a été mise en évidence à toutes les doses (sans modification du poids corporel). La réserve spermatique épидидymaire au niveau de la queue et du

corps de l'épididyme, la motilité de spermatozoïdes et la production journalière spermatozoïdes testiculaires sont significativement diminués à partir de $100 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$. Le temps de transit des spermatozoïdes dans la queue de l'épididyme¹¹ est significativement diminué à $300 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$. La LDH plasmatique est significativement augmentée à partir de $100 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ tandis que la testostérone plasmatique est significativement diminuée (relation dose-réponse). Le 4-NP diminue l'intégrité de l'acrosome¹², du potentiel membranaire mitochondrial et l'activité de la 5'-nucléotidase des spermatozoïdes épидидymaires à toutes les doses. Une augmentation de la production de peroxyde d'hydrogène et de peroxydation lipidique au niveau des spermatozoïdes épидидymaires est observée à toutes les doses et une relation dose réponse est mise en évidence. Les activités de la superoxyde dismutase (SOD), de la catalase et de la glutathion peroxydase sont significativement diminuées dans les spermatozoïdes épидидymaires. Les auteurs concluent que le 4-NP présente un effet cytotoxique sur les spermatozoïdes épидидymaires. Il perturbe l'équilibre d'oxydo-réduction (balance entre prooxydant et antioxydant) entraînant un stress oxydant au niveau des spermatozoïdes épидидymaires. Ce qui, associé à la diminution du temps de transit des spermatozoïdes épидидymaires, pourrait affecter la qualité du sperme et potentiellement la fertilité.

Des rates Wistar ont été exposées de GD7 à PND21 à 0, $250 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ de nonylphénol (forme non précisée), $100 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ de vitamine E ou du nonylphénol + Vitamine E ($n = 8/\text{groupe}$) (véhicule : huile de maïs). Après le sevrage, les mâles F1 ont été exposés par voie orale à la même dose pendant 90 jours. Une diminution significative du poids corporel moyen est observée à la fin du traitement par le nonylphénol seul ou associée à la vitamine E. Le poids absolu moyen et le volume des testicules, le volume des tubes séminifères et leur diamètre, l'épaisseur de la membrane basale de l'épithélium séminifère, le nombre total de spermatogonies de type A et B, de spermatocytes, de spermatides et de cellules de Sertoli sont significativement diminués chez les mâles F1 exposés à $250 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ de nonylphénol. Une diminution significative du poids corporel moyen est observée à la fin du traitement par le nonylphénol seul ou associé à la vitamine E. lorsque la vitamine E et de nonylphénol sont co-administrés les effets observés suite à l'exposition au nonylphénol seul ne sont pas retrouvés (Mehranjani *et al.*, 2009).

Jie *et al.* ont exposé par gavage des rats Sprague-Dawley ($n = 20/\text{sexe}/\text{dose}$) de GD14 à GD19 (organogénèse) à 0, 20, 40, 80 ou $200 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ de nonylphénol (forme non précisée) (véhicule : huile d'arachide) et un contrôle positif ($30 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ de $17\text{-}\beta\text{-oestradiol}$). Aucune précision sur l'état de santé des mères n'est disponible dans la publication. Une diminution de tous les critères de développement des ratons (sortie des incisives, développement de la fourrure, ouverture des yeux et des oreilles) est observée suite à une exposition *in utero* ($200 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$). Un retard de

¹¹ Le temps de transit des spermatozoïdes dans la queue de l'épididyme a été calculé en divisant le nombre de spermatozoïdes dans chaque région par la production journalière spermatique.

¹² L'intégrité de l'acrosome : Une fois les échantillons de spermatozoïdes récupérés, ceux sont déposés sur une lame, séchés, fixés avec du méthanol et incubés 30 min à 37°C avec un réactif fluorescent. Pour chaque réplicat, 100 spermatozoïdes sont comptés pour déterminer la proportion d'acrosome intact (fluorescence modérée et intense) et d'acrosomes endommagés (fluorescence faible, éparse ou absente) grâce à un microscope à épifluorescence.

développement moteur fonctionnel a également été rapporté à la même dose (Jie *et al.*, 2010). Des doses de 80 et 200 mg.kg⁻¹.j⁻¹ de nonylphénol ou de 17-β-oestradiol administrés par gavage chez les rates gestantes entraîne une diminution significative de la taille moyenne des portées, du nombre par portée de rats vivants à la naissance et du rapport entre la distance anogénitale et la longueur du corps (diminution significative à 40 et 200 mg.kg⁻¹.j⁻¹). Une exposition à 200 mg.kg⁻¹.j⁻¹ de nonylphénol entraîne une diminution significative de la mortalité néonatale et à PND20. Chez les rats à la naissance (PND0), une diminution significative du poids corporel et du poids absolu des testicules ont été mises en évidence à partir de 80 mg.kg⁻¹.j⁻¹ et du poids absolu de la prostate à partir de 40 mg.kg⁻¹.j⁻¹. Des effets reprotoxiques chez les mâles F1 à PND90 ont été rapportés à 80 et 200 mg.kg.j⁻¹ : une diminution significative des activités de l'ALP (alcaline phosphatase), de la concentration en testostérone plasmatique, production journalière spermatique, des réserves spermatiques au niveau de l'épididyme ainsi que des altérations de la motilité des spermatozoïdes. Le pourcentage de spermatozoïdes anormaux est significativement augmenté à 80 mg.kg⁻¹.j⁻¹.

Des rats mâles Wistar (n = 6/groupe) ont été exposés par voie orale 3 fois par jour pendant 50 semaines à 0 ou 25 mg.kg⁻¹.j⁻¹ à un mélange de nonylphénols à chaînes ramifiées (n°CAS 84852-15-3) (véhicule huile d'olive) (Aydogan *et al.*, 2010). Des effets sur l'appareil reproducteur mâle ont été rapportés suite à l'exposition au mélange de nonylphénols ramifiés seuls tels qu'une augmentation significative du poids absolu des vésicules séminales, des lésions au niveau des testicules (atrophie séminifère, débris de cellules germinales, lésions des tubes séminifères, dégénération congestion des spermatocytes,) et de la prostate (atrophie, congestion) et une diminution et significative des réserves spermatiques. Une augmentation significative des concentrations en malondialdéhyde (+154%) et une diminution significative des niveaux de GSH dans les testicules (+51%) sont observées suite à une exposition à 25 mg.kg⁻¹.j⁻¹. L'ensemble de ces effets sont majorés lorsque le mélange de nonylphénols ramifiés est co-administré avec la vitamine C.

Woo *et al.* ont réalisé une étude de toxicité répétée sur 28 jours sur des rats Sprague-Dawley (n = 6/groupe) exposés par gavage à 0, 10, 50 ou 250 mg.kg⁻¹.j⁻¹ d'un mélange de nonylphénols à chaînes ramifiées (n°CAS 84852-15-3) (OCDE 407, BPL) (véhicule : huile d'olive). Une augmentation du poids absolu et relatif de la thyroïde a été observée à partir de 50 mg.kg⁻¹.j⁻¹ chez les mâles. A 250 mg.kg⁻¹.j⁻¹, les mâles présentent une diminution du poids relatif de la prostate ventrale et des vésicules séminales, une faible diminution significative de la FSH sérique. Les auteurs rapportent une faible diminution significative de la motilité spermatique à 10 et 250 mg.kg⁻¹.j⁻¹. Les femelles présentent des cycles œstraux irréguliers, une hyperplasie de la muqueuse vaginale et une diminution faible mais significative de la TSH à 250 mg.kg⁻¹.j⁻¹ ainsi qu'une faible augmentation de la LH sérique à partir de 50 mg.kg⁻¹.j⁻¹. Une augmentation des glandes surrénales est mise en évidence chez les femelles exposées à 250 mg.kg⁻¹.j⁻¹ ainsi que des modifications histologiques (hypertrophie au niveau de la zone glomérulaire) (Woo *et al.*, 2007). Des effets rénaux, hépatiques et hématologiques ont été également rapportés à la plus forte dose (cf. 5.3.2). Les auteurs concluent que le NOAEL pour l'ensemble des effets est de 10 mg.kg⁻¹.j⁻¹.

Wu *et al.* ont exposé des rats mâles Sprague-Dawley par injection intraveineuse unique de 4-NP à 100 µg.kg⁻¹ et n'ont pas observé d'effet sur la concentration de testostérone sanguine (Wu *et al.*, 2010). En revanche, dans une étude sur 3 générations, une diminution significative de la testostérone sérique a été observée à toutes les doses chez des rats F1 à PND2 (pas chez les F2

et F3) exposés *via* l'alimentation au 4-NP (95% d'isomères à chaîne ramifiée de 4-NP et 5% d'isomères à chaîne ramifiée de 2-NP) de GD0 à PND2 (0, 25, 200 et 750 ppm) (Laurenzana *et al.*, 2002). Cette diminution n'a pas été mise en évidence chez les rats F1 et F2 à PND50 et PND140. Le seul effet sur les organes reproducteurs mis en évidence était une augmentation du poids absolu de la prostate dorsolatérale à 200 et 750 ppm chez les rats F1 à PND50 (du poids relatif à 750 ppm), sans modification du poids corporel. L'activité de la 17 α -hydroxylase/C17,20-lyase (enzyme impliquée dans la synthèse de testostérone) diminue significativement dans les microsomes testiculaires suite à l'exposition à 200 et 750 ppm de 4-NP uniquement chez les rats F2 à PND50 et PND140. Une diminution de la NADPH réductase a également été rapportée chez les rats F1 et F2 (PND50, PND140). Les auteurs concluent que le 4-NP pourrait inhiber l'activité d'enzymes impliquées dans la synthèse de testostérone.

Plusieurs études réalisées chez la **souris** mettent également en évidence des effets sur l'appareil reproducteur mâle sur plusieurs générations (Kyselova *et al.*, 2003 ; El-Dakdoky *et al.*, 2007 ; Dobrzynska, 2012).

Kyselova *et al.* ont exposé *via* l'eau de boisson des souris CD-1 sur plusieurs générations à 50 et 500 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de 4-NP (Kyselova *et al.*, 2003). Les deux doses testées entraînent des lésions similaires au niveau de l'acrosome chez les générations F0 et F1. Aucune altération de la spermatogénèse n'est observée chez la génération F0. Chez les F1, des altérations des tubules séminifères (transformation des cellules germinales, apparition de cellules arrondies dans la lumière) sont mises en évidence ainsi qu'une diminution significative du diamètre des tubules séminifères et de l'épaisseur de l'épithélium aux 2 doses testées. Les auteurs concluent à un effet du 4-NP sur la spermatogénèse et la qualité du sperme.

Des souris Swiss ont été exposées 35 jours par voie intra-péritonéale à 0, 21,25 et 42,5 $\text{mg}\cdot\text{kg}\cdot\text{pc}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ de 4-NP (El-Dakdoky *et al.*, 2007). La plus forte dose de 4-NP testée entraîne une diminution significative du poids absolu des testicules et de l'épididyme, de la réserve spermatique et de la motilité spermatique alors qu'à la plus faible dose, seule une diminution significative de la motilité spermatique est observée. Des modifications histologiques sont observées aux 2 doses testées (diminution significative du diamètre des tubules séminifères et de l'épaisseur de la couche de cellules germinales).

Après l'exposition par injection de souris mâles à 25 et 50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ d'un mélange de nonylphénol à chaînes ramifiées pendant 8 semaines (5 jours/semaine), une diminution significative des réserves spermatiques a été rapportée 1, 4 et 8 semaines après la fin de l'exposition (Dobrzynska, 2012). Une diminution du pourcentage de spermatozoïdes anormaux a été mise en évidence 24 h, 1, 4 et 8 semaines après exposition à 25 et 50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Une diminution du poids moyen des testicules a été observée à 25 et 50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 24 h, 1, 4 et 8 semaines après la fin de l'exposition (significatif à 25 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 4 semaines après exposition et à 50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 24 h et 8 semaines après exposition). Cependant, les auteurs rapportent que l'exposition des souris mâles n'affecte pas leur fertilité. Aucune modification significative de la fréquence des malformations n'a été rapportée.

- **Autres effets**

Des **effets rénaux** ont été mis en évidence sur plusieurs générations dans quelques études prénatales.

Dans l'étude du NTP (1997), publiée par Chapin *et al.* en 1999, 3 générations de rats Sprague-Dawley (30 animaux par sexe) ont été exposés par voie orale à 0, 200, 650 et 2000 ppm (0, 15, 50 et 160 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ hors période d'accouplement et 0, 30, 100 et 300 mg.kg⁻¹.j⁻¹ pendant la lactation) d'un mélange de nonylphénol à chaînes ramifiées (n°CAS 84852-15-3) (Chapin *et al.*, 1999). La génération F0 a été exposée 15 jours, les générations F1 et F2 ont été exposées de la naissance à l'âge de 20 semaines et la génération F3 a été exposée de la naissance à l'âge de 8 semaines. La fertilité est normale. On note à 160 mg/kg pc/j chez les femelles, un allongement du cycle œstral (chez les F1 et F2) et à 50 et 160 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, une ouverture vaginale précoce (chez les F1, F2 et F3), une diminution du poids des ovaires (sans lésion histologique), et chez les mâles, une diminution des réserves spermatiques épидидymaires. Un NOAEL concernant les effets reprotoxiques a été identifiée à 15 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. Une diminution du gain pondéral a été observée à 50 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ chez les femelles F1 et F3 et les mâles F2 et à 160 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ chez toutes les générations. Les auteurs ont également mis en évidence une augmentation du poids des reins à 50 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (mâles F0, F1 et F2) et à 160 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (mâles F0, F1 et F2 et femelles F1). En outre, dès 15 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ et pour toutes les générations, des lésions dégénératives et une dilatation tubulaire rénale non dose-dépendantes ont été mises en évidence. Un LOAEL de 15 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ a été identifié.

Latendresse *et al.* ont exposé des rats Sprague-Dawley à 0, 5, 25, 200, 500, 1000 ou 2000 ppm (soit 0 – 0,0375 – 1,875 – 15 – 37,5 – 70 et 150 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) de 4-NP (n°CAS 84852-15-3) du 7^{ème} jour de la gestation (GD7) au 50^{ème} jour de vie (PND 50) (Latendresse *et al.*, 2001) *via* un régime alimentaire sans soja ni alfalfa. L'expérimentation avait pour but d'étudier les effets néphrotoxiques. A 150 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, tous les rats F1 présentaient une polykystose rénale avec des lésions rénales sévères. A 75 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, 33% des mâles F1 et 27% des femelles F1 présentaient des lésions modérées tandis que l'incidence de la maladie polykystique rénale de sévérité moyenne était de 34% chez les mâles F1 et de 26% chez les femelles F1. Un NOAEL de 37,5 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ est établi par les auteurs pour la maladie polykystique rénale. Le mécanisme évoqué est une prolifération des cellules épithéliales tubulaires qui bloquerait les tubules et provoquerait les lésions kystiques. La prolifération cellulaire serait sous la dépendance des récepteurs œstrogéniques rénaux activés par les nonylphénols ramifiés apporté au rein par le sang.

Tyl *et al.* ont réalisé une étude sur 3 générations afin de confirmer les effets rénaux mis en évidence dans les études de Cunny *et al.* (1997) et Chapin *et al.* (1999). Cette étude a été réalisée chez des rats Sprague-Dawley exposés par voie orale à des doses de 0, 20, 200, 650 et 2000 ppm (0 - 1,5 – 15 – 45 - 150 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) d'un mélange de nonylphénols à chaîne ramifiées (n° CAS 84852-15-3) (Tyl *et al.*, 2006). Une diminution significative du poids absolu et relatif des reins a été mise en évidence à 45 et 150 mg.kg⁻¹.j⁻¹ chez les mâles adultes F0, F1 et F2. Les auteurs ont également rapporté des kystes médullaires, une minéralisation de la jonction médullaire et une néphropathie tubulaire à partir de 45 mg.kg⁻¹.j⁻¹. Les auteurs retiennent un NOAEL de 15 mg.kg⁻¹.j⁻¹ pour les effets rénaux chez les rats mâles adultes.

Dans une étude sur 3 générations, des rats Sprague-Dawley ont été exposés de la conception jusqu'à l'âge adulte à 0 ou 25 ppm d'un mélange de nonylphénols à chaînes linéaires (n°CAS 25154-52-3, véhicule éthanol) *via* l'eau de boisson (Hernandez-Rodriguez *et al.*, 2007). Aucune modification du poids relatif des reins n'a été observée. Les auteurs ont observé une augmentation

significative de l'index apoptotique chez les rats mâles F1 et du pourcentage d'hépatocytes binuclées dans le foie des rats mâles et femelles F3. Une accumulation modérée de glycogène dans le cytoplasme a été observée dans le foie des rats exposés au nonylphénol, le glycogène s'accumulant principalement sous forme monoparticulaire (α et β -glycogène). Les auteurs concluent que le mélange de nonylphénols à chaînes linéaires est capable d'induire des **effets en lien avec une hépatotoxicité** potentiellement liés à une altération adaptative et/ou métabolique du tissu hépatique.

Plusieurs publications ont étudié les **effets neurocomportementaux** chez le rat suite à une exposition prénatale.

Flynn *et al.* ont exposé des rattes Sprague-Dawley à 0, 2, 16, 60 mg.kg⁻¹.j⁻¹ de nonylphénol (forme non précisée) *via* l'alimentation sur plusieurs générations (à partir de PND 42 chez F0 à F2). Aucune altération significative de l'apprentissage spatial n'a été observée dans le test de la piscine de Morris¹³ chez des rattes ovariectomisées adultes ou d'âge moyen suite à une exposition au nonylphénol sur 2 générations (Flynn *et al.*, 2002). Il est important de préciser, néanmoins, que le statut hormonal des femelles est différent entre la phase d'acquisition (ovariectomie) et le test de performance (ovariectomie et supplémentation en œstradiol et progestérone). Par ailleurs, l'évolution de l'apprentissage pendant la phase d'acquisition, qui permet de valider ce type de tests, n'est pas montrée dans l'article.

Jie *et al.* ont exposé des rats Sprague-Dawley de GD9 à GD15 (période de développement du système nerveux) à 50, 100 ou 200 mg.kg⁻¹.j⁻¹ de nonylphénol (forme non précisée) (véhicule : huile d'arachide). A 200 mg.kg⁻¹.j⁻¹, une diminution significative des fonctions d'apprentissage et de mémoire ont été rapportées chez des rats dans le test de la piscine de Morris. Mais là non plus, les résultats des tests d'acquisition ne sont pas montrés dans l'article.

Dans un test d'évitement passif, les rats exposés à 200 mg.kg⁻¹.j⁻¹ ont vu leur temps de réaction¹⁴ augmenté pendant la période d'apprentissage et présentaient un temps de latence¹⁵ plus faible lors de la première descente vers le compartiment obscur pendant les périodes d'apprentissage, de consolidation et de détérioration de la mémoire (Jie *et al.*, 2010).

¹³ Labyrinthe de Morris ou piscine de Morris est un dispositif aquatique circulaire qui permet d'évaluer les capacités à mémoriser et à gérer de l'information spatiale chez l'animal dans une situation aversive. Ce dispositif est divisible virtuellement en quadrants et une plateforme immergée (invisible) est localisée dans l'un de ceux-ci. Le principe réside dans la motivation de l'animal à échapper à l'aversion causée par l'eau, celui-ci devant trouver et grimper le plus rapidement possible sur la plateforme. Suivant le protocole utilisé, le dispositif permet d'évaluer la mémoire de référence (la plateforme reste à la même place à chaque jour de test) ou la mémoire de travail (la plateforme change de place d'un jour à l'autre). La position de départ du rongeur varie de quadrant en quadrant au fil des essais. Les données généralement analysées sont la latence à trouver la plateforme, la distance parcourue et la vitesse pour l'atteindre. Il est ainsi attendu que la latence soit de plus en plus courte et que le chemin parcouru soit plus direct et plus rapidement effectué au fil des essais et lorsque l'intervalle de rétention entre la phase de mémorisation et la phase de rappel est court.

¹⁴ Temps de réaction : temps entre la décharge électrique reçue et la remontée sur la plate forme non électrifiée.

¹⁵ Temps de latence : temps passé sur la plate forme, non électrifiée, avant de redescendre sur la grille électrifiée. Dans cette étude, c'est le temps pour la première redescente qui est analysé les animaux ayant subi un apprentissage auparavant.

Des rats F344 ont été exposés de GD3-PND20 par voie orale à 0, 0,1 ou 10 mg.kg⁻¹.j⁻¹ de 4-NP (véhicule : huile de maïs). Le 4-NP n'affecte pas les caractéristiques comportementales dans un test de champ ouvert¹⁶ (ratons âgés de 8 semaines), la mesure d'activité motrice spontanée (12 semaines) ou un labyrinthe en croix surélevée (14 semaines). Des ratons de 15 semaines exposés à 0,1 mg.kg⁻¹.j⁻¹ de 4-NP ont été soumis à un test d'évitement actif et présentent un léger déficit de réponses d'évitement. Une exposition de 0,1 mg.kg⁻¹.j⁻¹ de 4-NP entraîne, chez des ratons F344, des modifications de comportement, en particulier suite à un stimulus provoquant la peur (choc électrique) (Negishi *et al.*, 2004).

Xu *et al.* ont étudié l'influence du nonylphénol (forme non précisée) sur le développement comportemental chez des ratons exposés pendant la gestation à 0, 50, 100 et 200 mg.kg⁻¹. Les auteurs ont mis en évidence à 200 mg.kg⁻¹, un retard d'apparition des marqueurs physiologiques précoces (détachement du pavillon, pousse des poils et des dents, ouverture des yeux) et des indices de développement neurocomportemental (réflexe de retournement/redressement aérien et de surface, sursaut au bruit, suivi oculaire) (Xu *et al.*, 2010 résumé).

Ferguson *et al.* ont étudié l'influence du nonylphénol sur le comportement de rats Sprague-Dawley. Des femelles gestantes ont été exposées *via* l'alimentation à 0, 25, 500 ou 2000 ppm de 4-NP à partir de GD7. A PND21, les rats F1 ont été exposés aux mêmes doses jusqu'à PND77 (Ferguson *et al.*, 2000). L'exposition au 4-NP pendant la gestation entraîne des diminutions de la consommation alimentaire et de gain de poids chez les mères et les petits à toutes les doses. La seule altération du comportement mise en évidence est une augmentation significative de la consommation de chlorure de sodium chez les rats F1 à 2000 ppm (PND73-75), avec une augmentation plus importante chez les femelles¹⁷. La même équipe a étudié la consommation de sodium chez des rats Sprague-Dawley exposés à un mélange de nonylphénols à chaînes ramifiées (n°CAS 84852-15-3) sur plusieurs générations (0, 25, 200 ou 750 ppm, soit 0, 2, 16 ou 60 mg.kg⁻¹.j⁻¹) (Ferguson *et al.*, 2009). L'exposition au mélange de nonylphénols à chaînes ramifiées n'altère pas significativement la consommation de chlorure de sodium chez les générations F0, F1 et F2 bien que des diminutions du poids corporel aient été observées à 750 ppm.

Afin de déterminer si le nonylphénol peut avoir des conséquences sur la production de corticostérone et d'aldostérone, Chang *et al.* ont exposé des rates Sprague-Dawley *via* l'eau de boisson à 2 µg.mL⁻¹ de nonylphénol (forme non précisée) pendant la gestation et l'allaitement (gestation = 400 µg.kg⁻¹.j⁻¹ en moyenne et allaitement : 800 µg.kg⁻¹.j⁻¹ ; témoin : eau) (Chang *et al.*, 2012). Chez les mâles F1, une augmentation significative du poids corporel est observée, ainsi qu'une augmentation significative des concentrations plasmatiques d'ACTH, de cortisone et

¹⁶ Le test de champ ouvert permet de mesurer les déplacements de l'animal par un système de suivi par infrarouge. En plus des informations sur l'activité locomotrice, ce test permet de prédire une activité de type anxiolytique. Les variables mesurées dans l'open field sont l'activité ambulatoire totale, le nombre d'entrées et le temps passé dans l'aire centrale (aire virtuelle représenté par un carré de 12,3 cm) ainsi que les redressements.

¹⁷ La consommation de chlorure de sodium a été mesurée à PND73 à 75 en plaçant 2 bouteilles dans chaque cage, une contenant de l'eau et l'autre une solution saline. Les bouteilles ont été pesées une fois par jour. La quantité consommée est divisée par le poids corporel à PND70 pour avoir des mL/kg/j.

d'aldostérone, de l'activité de la 11 β -HSD1 (11 β -hydrostéroïde déshydrogénase type 1) dans le foie et le tissu adipeux, de l'activité de la 11 β -hydroxylase dans la corticosurrénale et l'activité de l'aldostérone synthase dans la surrénale. Chez les femelles, une augmentation des concentrations plasmatiques en corticostérone et aldostérone, de l'activité de la 11 β -HSD1 dans le foie et le tissu adipeux et de l'aldostérone dans la surrénale ont été mises en évidence. Les auteurs concluent que l'exposition au nonylphénol pendant la gestation entraîne un hypercorticisme chez la génération F1 et prédispose à des pathologies associées (hypertension, obésité).

Des souris mâles C57BL/6J ont reçu une injection unique intrapéritonéale de 0,5 mg.kg⁻¹ de 4-NP ou d'huile d'olive (véhicule) (Hao *et al.*, 2012). En présence de 4-NP, une augmentation significative de l'expression des marqueurs de l'adipogénèse PPAR γ , LPL (lipoprotéine lipase) et aP2 (adipocyte fatty acid binding protein-aP2) a été mise en évidence au niveau des tissus adipeux épидидymaire (périgonadique) et du marqueur LPL au niveau hépatique. Le 4-NP active l'expression des gènes de la lipogénèse suggérant que le 4-NP pourrait être un agent adipogène *in vivo*. Dans une autre expérience, Hao *et al.* ont exposé des souris gestantes par gavage à 0 – 0,05 – 0,25 ou à 0,5 mg.kg⁻¹ de GD 12 à PND7 (Hao *et al.*, 2012). L'exposition périnatale au 4-NP augmente significativement le poids corporel à 0,05 mg.kg⁻¹ (♂ et ♀) et 0,25 mg.kg⁻¹ (♀), le poids du foie à 0,05 mg.kg⁻¹ (♂ et ♀), la masse graisseuse à 0,05 mg.kg⁻¹ (♂) et à 0,25 mg.kg⁻¹ (♀) et les niveaux sériques de cholestérol total à 0,25 mg.kg⁻¹ (♀) et de glucose à 0,05 et 0,25 mg.kg⁻¹ (♀). Hao *et al.* concluent que le 4-NP pourrait donc augmenter l'incidence d'obésité et pourrait agir comme un facteur de stress pour l'obésité et pathologies associées.

Une publication récente a étudié les **effets obésogènes/adipogènes** chez le rat suite à une exposition péri-natale (cf : annexe 5).

L'étude de Zhang *et al.* 2014 rapporte les effets adipogènes d'une exposition périnatale au 4NP sur deux générations de rats Wistar. La génération F1 a été exposée par gavage (0,5 mL/kg) des mères F0, de GD6 à PND21, avec une alimentation dépourvue de phytoestrogènes contenant du 4NP, aux doses de 0 (huile d'olive), 5, 25 et 125 μ g/kg/j. Les doses ont été ajustées quotidiennement au poids des mères. Les cages de contention et les biberons étaient en polypropylène. Les portées des F1 ont été ajustées à 3 mâles et 3 femelles par mère. A PND21, 8 mâles et 8 femelles F1 ont été sacrifiés (1-2 mâles/femelles par portées). Le reste des individus F1 a été nourri normalement jusqu'à l'âge de 9 semaines. Après cette période de 9 semaines, pour produire les F2, 8 femelles F1 contrôles ont été accouplées à 8 mâles F1 contrôles (groupe F2 contrôle), et 8 femelles exposées ont été accouplées à 8 mâles F1 contrôles (groupe F2 exposés). Les autres mâles individus ont été élevés jusqu'à l'âge de 26 semaines et sacrifiés pour analyse sanguine et du tissu adipeux. A PND2, 8 mâles et 8 femelles F2/groupe ont été sélectionnés et nourris normalement jusqu'à la fin de l'étude.

Les observations ont porté sur le tissu adipeux périgonadique (épididymal et utérin), la masse corporelle, l'adiponectine, la leptine, la glycémie, les acides gras libres et les triglycérides sériques. Il n'a pas été observé d'effets sur la durée de gestation, la taille des portées, le sex ratio, le poids à la naissance chez les F1, la prise alimentaire et la prise de poids des F0 suivie de G6 à PND0. Chez les F1, les concentrations en 4-NP à PND21 étaient de 2.48 \pm 0.32 ng/mL chez le groupe 25 μ g/kg/j et 13.13 \pm 1.27 ng/mL chez le groupe 125 μ g/kg/j.

Chez les mâles F1, il a été observé : (i) Une augmentation de la masse corporelle, de la proportion relative du tissu adipeux (de 12 semaines à 26 semaines en postnatal), de la leptine, de la glycémie à 5 µg/kg/j ; (ii) Une augmentation de la masse corporelle, de la proportion relative du tissu adipeux, de la leptine, des triglycérides, de la glycémie, et diminution de l'adiponectine, à 25 µg/kg/j. L'augmentation de masse corporelle n'est pas liée à une augmentation de poids des F0 suivi de GD6 à PND0 car il n'y a pas de différence significative avec les témoins. (iii) Une augmentation de la masse corporelle, de la proportion relative du tissu adipeux, de la leptine, des triglycérides, de la glycémie. Diminution de l'adiponectine à 125 µg/kg/j. A l'âge de 26 semaines, il a été aussi observé une augmentation très significative (« hypertrophie ») et dose-dépendante du volume des adipocytes, une augmentation dose-dépendante de l'expression des gènes codant pour des facteurs transcription proadipogènes Srebp1 (sterol regulatory element-binding protein 1), PPARγ et de la fatty acid synthase (FAS), une augmentation de l'expression du gène codant pour la lipoprotéine lipase (rôle double, fournit les acides gras pour l'oxydation ou le stockage (note du lecteur) et une diminution dose-dépendante de l'expression des gènes et des récepteurs ERα dans le tissu adipeux périgonadique.

Chez les femelles F1, il a été observé : (i) Une augmentation de la masse corporelle, de la proportion relative du tissu adipeux (de 12 semaines à 26 semaines en postnatal), de la leptine, et une diminution de l'adiponectine à 5 µg/kg/j ; (ii) Une augmentation de la masse corporelle, de la proportion relative du tissu adipeux, de la leptine, des triglycérides, de la glycémie. Diminution de l'adiponectine à 25 µg/kg/j. (iii) Une augmentation de la masse corporelle, de la proportion relative du tissu adipeux, de la leptine, de la glycémie, et une diminution de l'adiponectine à 125 µg/kg/j. A 26 semaines en postnatal, il a été aussi observé une augmentation très significative (« hypertrophie ») et dose-dépendante du volume des adipocytes, une augmentation dose-dépendante de l'expression des gènes codant pour des facteurs transcription proadipogènes Srebp1, PPARγ et de la fatty acid synthase, une augmentation de l'expression du gène codant pour la lipoprotéine lipase et une diminution dose-dépendante de l'expression des gènes et des récepteurs ERα dans le tissu adipeux gonadique.

Chez les mâles F2, il a été observé : (i) Une augmentation de la masse corporelle, de la proportion relative du tissu adipeux, de la leptine, de la glycémie. Une diminution de l'adiponectine à 5 µg/kg/j. (ii) une augmentation de la masse corporelle, de la proportion relative du tissu adipeux, de la leptine, des triglycérides, de la glycémie. Une diminution de l'adiponectine à 25 µg/kg/j. (iii) Une augmentation de la masse corporelle, de la proportion relative du tissu adipeux, de la leptine, des triglycérides, de la glycémie. Une diminution de l'adiponectine à 125 µg/kg/j. Il a été aussi observé à l'âge de 13 semaines une augmentation très significative (« hypertrophie ») et dose-dépendante du volume des adipocytes, une augmentation dose-dépendante de l'expression des gènes codant pour des facteurs transcription proadipogènes Srebp1, PPARγ et de la FAS, une augmentation de l'expression du gène codant pour la lipoprotéine lipase et une diminution dose-dépendante de l'expression des gènes et des récepteurs ERα dans le tissu adipeux gonadique.

Une exposition périnatale au 4-NP peut affecter l'adipogenèse à la fois chez les rats mâles et femelles F1, et cet effet peut se répercuter chez les F2 à travers la lignée maternelle. Les auteurs suggèrent que la perturbation de l'expression des ERα pourrait être impliquée dans le mécanisme d'action du 4NP. Un LOAEL = 5 µg/kg/j peut être identifié de cette étude pour les effets adipogène/obésogène (Augmentation du poids corporel, Augmentation de la masse du tissu

adipeux, Augmentation des hormones et facteurs pro-adipogènes, Augmentation du volume des adipocytes, Augmentation de la glycémie).

5.2.1.3 Données *in vitro*

Plusieurs études *in vitro* récentes ont été réalisées confirmant les effets sur l'appareil reproducteur mâle.

Uguz *et al.* ont étudié *in vitro* les effets du nonylphénol (forme non précisée) sur des échantillons de sperme épидидymaire de rats matures SD exposés à 1, 10, 100, 250 et 500 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ pendant 1, 2, 3 ou 4 h (Uguz *et al.*, 2009). L'exposition à 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de nonylphénol entraîne une diminution de la mobilité des spermatozoïdes suivie par une perte complète de mobilité à la plus forte dose pour toutes les durées d'exposition. L'intégrité acrosomique était significativement réduite à 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ et une induction dose dépendante de la réaction acrosomique était observée aux plus fortes doses. Le pourcentage de spermatozoïdes présentant un fort potentiel de membrane mitochondrial diminue fortement après une exposition de plus de 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Shao *et al.* ont réalisé une étude *in vitro* sur des spermatozoïdes de souris afin d'étudier l'influence du nonylphénol (forme non précisée) sur la réaction acrosomique. Des spermatozoïdes collectés chez des souris ont été stimulés pour induire une réaction acrosomique puis exposés à 0, 10, 20, 30, 60 et 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Le nonylphénol inhibe significativement la réaction acrosomique aux concentrations supérieures à 60 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ et une réduction du taux de survie des spermatozoïdes était observée avec l'augmentation des concentrations en nonylphénol. Les auteurs concluent que le nonylphénol affecte la spermatogénèse chez la souris *via* une inhibition de la réaction acrosomique (Shao *et al.*, 2011 résumé).

Gong *et al.* ont mis en évidence des modifications morphologiques importantes sur des cellules de Sertoli de rat Sprague Dawley incubées avec 30 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de 4-NP (arrondissement des cellules, rétrécissement cellulaire, raréfaction du cytoplasme, rupture de la membrane cellulaire, collapsus du cytosquelette, rétrécissement du nucleus). Aucune modification n'était mise en évidence aux plus faibles concentrations (0,1, 1 et 10 μM) (Gong *et al.*, 2009). Une diminution significative de la viabilité des cellules de Sertoli a également été observée au bout de 24 h à 30 μM .

Wu *et al.* ont étudié l'influence du 4-NP (4,25-127,5 μM) sur la synthèse de testostérone dans les cellules de Leydig de rat (Wu *et al.*, 2010). Une augmentation significative de la sécrétion de testostérone a été mise en évidence au niveau des cellules de Leydig exposées 1 ou 4 h à 127,5 μM de 4-NP. En présence d'hCG, la même dose de 4-NP induit une diminution significative de la libération de testostérone induite par l'hCG dans les cellules de Leydig. De plus, les auteurs concluent que 127,5 μM de 4-NP stimulent la stéroïdogénèse dans les cellules de Leydig de rat par une augmentation de l'activité de l'enzyme P450_{SCC} (Cytochrome P450 side chain cleavage) et la stimulation de l'expression de la protéine StAR (Steroidogenic Acute Regulatory). Le 4-NP en présence d'hCG entraîne une inhibition de la stéroïdogénèse.

Une étude *in vitro* récente a investigué l'implication du 4-NP dans le développement de tissu adipeux (Hao *et al.*, 2012). Des fibroblastes embryonnaires de souris 3T3-L1 (préadipocytes) ont été incubés avec différentes doses de 4-NP (1 nM, 10 nM, 100 nM, 1 μM , 10 μM) ou de troglitazone (1 ou 10 μM ; antagoniste des PPAR γ) en présence d'insuline pendant 10 jours. Une

faible concentration de 4-NP (à partir de 100 nM) augmente significativement l'activité de la glycérol-3-phosphate déshydrogénase (GPDH) suggérant que le 4-NP peut promouvoir la différenciation des préadipocytes 3T3-L1 en adipocytes. Pendant la différenciation, le 4-NP, en présence d'insuline, induit l'expression du récepteur PPAR γ (1 et 10 μ M) ainsi que l'expression de ses gènes cible (lipoprotéine lipase LPL, adipocyte fatty acid binding protein-aP2) nécessaires à l'adipogénèse (10 μ M).

5.2.2 Activité œstrogénique, androgénique et thyroïdienne

Une faible **activité œstrogénique** a été mise en évidence dans des études *in vivo* et *in vitro*.

Dans les études *in vivo*, une activité œstrogénique des nonylphénols a été mise en évidence par des tests utéro-trophiques effectués chez des rates exposés par voie orale (ICI, 1996 ; Odum *et al.*, 1997 ; Chemical Manufacturers Association, 1997b ; Lee et Lee, 1996 cités dans CE, 2002b). D'autres tests utéro-trophiques ont été réalisés après la publication du Risk Assessment Report :

Tableau XI : Études récentes testant les propriétés œstrogéniques du/des nonylphénol(s)

Références	Type de nonylphénol	Protocole	Résultats
Laws <i>et al.</i> , 2000	4-NP (mélange d'isomères ramifiés, 85% isomère para)	Rat Long Evans prépubères ou ovariectomisées Injection sous cutanée ou gavage : 25, 50, 100, 200 mg.kg ⁻¹ (1 injection/j pendant 3 jours) Témoin positif (T+) : 17 β -œstradiol, éthynyl œstradiol	<u>Test utéro-trophique</u> <u>Rat prépubère</u> : - ↗ significative de poids humide de l'utérus à 50 et 100 mg.kg ⁻¹ de 4-NP au bout de 6 et 24 h - ↗ plus importante du poids humide de l'utérus suite à exposition voie orale de 4-NP (50, 100 et 200 mg.kg ⁻¹) / exposition sous-cutanée <u>Rate ovariectomisée</u> : - ↗ significative de poids humide de l'utérus à 100 mg.kg ⁻¹ de 4-NP (voie orale)
Kang <i>et al.</i> , 2000	4-NP	Rat Sprague-Dawley immature ou ovariectomisée Injection sous-cutanée ou voie orale : 10, 100, 1000 mg.kg ⁻¹ . 3 jours Témoin positif (T+) : 17 β -œstradiol	<u>Test utéro-trophique</u> <u>Rat immature</u> : - ↗ significative de poids humide de l'utérus à 100 et 1000 mg.kg ⁻¹ de 4-NP par voie sous cutanée et à 100 mg.kg ⁻¹ par voie orale et pour le T+ (voie orale et sous cutanée) <u>Rate ovariectomisée</u> : - ↗ significative de poids humide de l'utérus à 1 000 mg.kg ⁻¹ de 4-NP administré en sous cutanée et pour le T+ (sous cutanée)
Kim <i>et al.</i> , 2002	4-NP (mélange d'isomères ramifiés contenant au	Rat Sprague-Dawley immature Injection sous-cutanée : 10, 25, 50, 100 et 200 mg.kg ⁻¹ . 3 jours (PND20 à 22) Témoin positif (T+) : DES (0,2 et 1,0 μ g.kg ⁻¹)	<u>Test utéro-trophique</u> - ↗ significative de poids humide de l'utérus à 100 et 200 mg.kg ⁻¹ de p-NP et 0,2 et 1,0 μ g.kg ⁻¹ DES

	minimum 92% d'isomères para, (CAS 104-40-5))		- ↗ significative de poids absolu du vagin et de l'utérus à 100 et 200 mg.kg ⁻¹ de p-NP et 1,0 µg.kg ⁻¹ DES - ↘ significative de poids ovaires à 100 et 200 mg.kg ⁻¹ de p-NP et 1,0 µg.kg ⁻¹ DES
Kwack <i>et al.</i> , 2002	4-NP	Rat Sprague-Dawley ovariectomisée Injection sous-cutanée : 10, 50, 200 et 400 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹ de 4-nonylphénol. 3 jours Témoin positif (T+) : 17β-oestradiol (1 µg.kg ⁻¹ .j ⁻¹)	<u>Test utéro-trophique</u> - ↗ dose-dépendante poids humide utérus à 1 µg.kg ⁻¹ .j ⁻¹ de T+ et 400 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹ de 4-NP - ↗ dose-dépendante poids vagin à 1 µg.kg ⁻¹ .j ⁻¹ de T+
		Lignée cellulaire humaine de cancer du sein MCF-7 Témoin positif (T+) : 17β-oestradiol	<u>E-Screen</u> : prolifération cellules MCF-7 maximum avec T+ à 1 nM. Effets œstrogéniques apparaissent à 10 µM de 4-NP <u>Liaison compétitive aux récepteurs aux œstrogènes</u> Inhibition compétitive de la liaison de T+ aux ER des cellules MCF-7 par le 4-NP
Zhang <i>et al.</i> , 2007	4-NP	Rat Wistar femelle ovariectomisée Voie intra-péritonéale. 100 et 200 mg.kg ⁻¹ de 4-NP. 3 jours Témoin positif (T+) : 17β-oestradiol (0,03 mg/kg)	<u>Test utéro-trophique</u> ↗ poids utérus à 100 et 200 mg.kg ⁻¹ de 4-NP et T+

Une réponse utéro-trophique a été clairement mise en évidence lors d'études *in vivo* chez la rate immature ou ovariectomisée permettant de conclure sur une activité œstrogénique des nonylphénols. Plusieurs études *in vitro* sur des levures recombinantes (test YES = Yeast Estrogen Screen) (Routledge et Sumpter, 1997 cité dans CE, 2002b ; Sohoni et Sumpter, 1998 ; Van den Belt *et al.*, 2004 ; Uchiyama *et al.*, 2008 ; Gabriel et Kohler, 2009), des lignées cellulaires humaines de cancer du sein sensibles aux œstrogènes (cellule MCF-7 : test E-Sreen ; cellules MCF-7 transfectées avec un élément de réponse aux œstrogènes : test MVLN) (Soto *et al.*, 1991 ; White *et al.*, 1994 cité dans CE, 2002b ; Gutendorf *et al.*, 2001 ; Kwack *et al.*, 2002 ; Maras *et al.*, 2006 ; Van den Belt *et al.*, 2004 ; Olsen *et al.*, 2005 ; Bonfeld-Jorgensen *et al.*, 2007) et des lignées cellulaires humaines de cancer de l'utérus (test d'activation transcriptionnelle faisant intervenir l'ERα humain transfecté de façon stable pour la détection de l'activité œstrogénique agoniste des substances testées (OCDE 455) sur cellules HeLa (Lee *et al.*, 2012) confirment cette activité œstrogénique des nonylphénols qui serait 10³ à 10⁶ fois inférieure à celle du 17β-oestradiol. Les effets des nonylphénols impliqueraient les récepteurs des œstrogènes (Lee et Lee, 1996 cité dans CE, 2002b). Lee *et al.* ont montré que l'affinité du nonylphénol (forme non précisée) pour l'ERα était environ 1400 fois moindre que celle du 17β-oestradiol dans le test de liaison compétitive (Lee *et al.*, 2012). En effet, le NP présente une affinité pour les récepteurs humains aux œstrogènes (Laws *et al.*, 2000 ; Olsen *et al.*, 2005 ; Li *et al.*, 2012). Cette affinité serait cependant inférieure à celle d'autres composés perturbateurs endocriniens tels que le bisphénol A ou le 4-t-octylphénol (Li *et al.*, 2012). Enfin, les métabolites du nonylphénol

présenteraient également une activité œstrogénique selon une étude de relation structure-activité (Graham et Shaw, 2011).

Le potentiel œstrogénique des isomères de nonylphénol dépend de la structure de la chaîne alkyle. Plusieurs études ont mis en évidence une différence d'activité œstrogénique entre les différents isomères de nonylphénol (Preuss *et al.*, 2006 ; Gabriel *et al.*, 2008 ; Gabriel et Kohler, 2009 ; Uchiyama *et al.*, 2008 ; Preus *et al.*, 2010). Ainsi, Uchiyama *et al.* ont rapporté des activités œstrogéniques différentes entre les 8 isomères de nonylphénol testés (test YES) (Uchiyama *et al.*, 2008). De même, Gabriel et Kohler ont évalué l'activité œstrogénique de 12 isomères de nonylphénols (test YES). L'activité maximale des isomères testés atteignait celle du 17 β -estradiol mais à des concentrations 1700 à 140 000 fois supérieures (Gabriel et Kohler, 2009). A ce jour, il n'existe pas de consensus sur les caractéristiques structurales liées à l'activité œstrogénique. Ainsi, Preuss *et al.* considèrent que la longueur de la chaîne alkyle et la ramification de la chaîne alkyle au niveau carbone α sont des critères indiquant une forte activité œstrogénique tandis que Gabriel et Kohler considèrent une ramification de la chaîne alkyle au niveau du carbone β et une longueur de la chaîne carbonée adéquate (4-6 atomes de carbones).

Les nonylphénols ne présenteraient pas une **activité anti-androgénique** selon des tests de Hershberger (Yamasaki *et al.*, 2003 : mélange de nonylphénols à chaînes linéaires ; Freyberger *et al.*, 2007 et 2009 : 4-NP) et des tests sur levures recombinantes (Lee *et al.*, 2003 : 4-NP). Le 4-NP inhiberait partiellement la liaison des androgènes à leurs récepteurs (Lee *et al.*, 2003). Cependant, quelques études *in vitro* ont montré un faible effet androgénique du 4-nonylphénol (Sohoni et Sumpter, 1998 : 4-NP ; Laws *et al.*, 2000 : mélange de nonylphénols à chaînes ramifiées contenant 85% d'isomère *para*).

En ce qui concerne les effets sur les **hormones thyroïdiennes**, peu d'études sont disponibles. Schmutzler *et al.* ont montré que l'exposition par voie orale de rates ovariectomisées à 80 mg.kg⁻¹.j⁻¹ de 4-NP pendant 12 semaines augmente significativement le taux d'hormones thyroïdiennes sériques (T3), et que, *in vitro*, le 4-NP inhibe la thyroperoxydase qui catalyse l'iodation des précurseurs des hormones thyroïdiennes au cours de leur synthèse (Schmutzler *et al.*, 2004). Une augmentation du poids absolu et relatif de la thyroïde a été observée chez des rats mâles à partir de 50 mg.kg⁻¹.j⁻¹ d'un mélange de nonylphénols à chaînes ramifiées (N°CAS 84852-15-3) ingérés lors d'une exposition chronique (Woo *et al.*, 2007).

5.3 Toxicité dose répétées

5.3.1 Données humaines

Les données humaines se limitent à deux cas de leucodermie des mains et des avant-bras chez des travailleuses japonaises exposées à des détergents alcalins renfermant des alkylphénols polyéthoxylés (nonyl- ou octyl-phénol) (utilisés pour dégraisser des métaux). Les auteurs spéculent sur le rôle du nonylphénol contenu dans ces détergents (présence de nonylphénol libre dans le détergent) (Ikeda *et al.*, 1970 cité dans CE, 2002b). Il n'y a pas eu d'autres cas rapportés.

5.3.2 Données animales

Plusieurs études de toxicité dose répétée ont été conduites et montrent que les nonylphénols ont pour cible principale les reins et le foie.

Dans une étude de 28 jours par voie orale, des rats Sprague Dawley (5 animaux par sexe) ont été exposés au nonylphénol (forme non précisée) à des doses de 0, 25, 100 ou 400 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (Hüls, 1989 cité dans CE, 2002b). Ni mortalité, ni signe de toxicité ne sont rapportés. A 400 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, on note, pour les deux sexes, une diminution significative du gain de poids et de la consommation alimentaire. Quelques anomalies biologiques (urée et cholestérol augmentés, glucose diminué), une augmentation du poids relatif du foie, des reins, des testicules apparaissent de même que des lésions histologiques rénales (hyalinisation des tubes proximaux) et hépatiques (vacuolisation mineure dans les hépatocytes périportaux) retrouvées uniquement chez le mâle à 400 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. Aucune lésion n'est observée à 25 et 100 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (NOAEL = 100 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹).

Dans une étude de toxicité à dose répétée (90 jours) suivant les lignes directrices de l'OCDE et les BPL, des rats Sprague-Dawley (15 animaux par sexe) ont été exposés à un mélange de nonylphénols à chaînes ramifiées (n°CAS 84852-15-3) administré par voie orale (*via* l'alimentation) à des doses de 0, 15, 50 et 150 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. Elle a montré une diminution du gain de poids et de la prise alimentaire, ainsi que des lésions histologiques hépatiques (nécrose cellulaire) et rénales (minéralisation notée lors d'une deuxième lecture anatomopathologique) à 150 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (CMA, 1997, Cunny *et al.*, 1997 cités dans CE, 2002b). Un NOAEL de 50 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ a été identifié.

Woo *et al.* ont réalisé une étude de toxicité répétée sur 28 jours sur des rats Sprague-Dawley exposés par gavage à 0, 10, 50 ou 250 mg.kg⁻¹.j⁻¹ d'un mélange de nonylphénols à chaînes ramifiées (CAS 84852-15-3) (OCDE 407, BPL). A la plus forte dose, une toxicité rénale et hépatique est rapportée avec une augmentation du poids relatif des reins et du foie ainsi que des modifications histologiques (hypertrophie cellulaire hépatique centrolobulaire, lésions rénales tubulaires) et des modifications des paramètres biochimiques (chez les mâles : augmentation γ -GT et cholestérol total et diminution triglycérides et glucose, chez les femelles : augmentation ALAT, γ -GT, azote uréique sanguin, sodium et phosphate inorganique et diminution du rapport albumine/globuline et glucose). Des altérations hématologiques ont également été mises en évidence à 250 mg.kg⁻¹.j⁻¹ (chez mâles et femelles, diminution de l'hémoglobine et de l'hématocrite, chez les femelles : diminution des globules rouges et du volume globulaire moyen, augmentation des plaquettes et de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine) suggérant une anémie (Woo *et al.*, 2007). Des effets reprotoxiques et perturbateurs endocriniens ont également été rapportés (cf. 5.2.1). Les auteurs concluent que le NOAEL pour l'ensemble des effets est de 10 mg.kg⁻¹.j⁻¹.

De plus, 2 études sur 3 générations chez des rats Sprague-Dawley exposés par voie orale à un mélange de nonylphénols à chaînes ramifiées ont mis en évidence des effets rénaux à partir de 45-50 mg.kg⁻¹.j⁻¹ : lésions dégénératives, dilatation tubulaire rénale, présence de kystes médullaires, minéralisation de la jonction médullaire et néphropathie tubulaire (NTP, 1997, Chapin *et al.*, 1999 cités dans CE, 2002b ; Tyl *et al.*, 2006). Les auteurs retiennent un NOAEL de 15 mg.kg⁻¹.j⁻¹ pour les effets rénaux chez les rats mâles adultes.

Une étude sur 90 jours a été conduite par Mao *et al.* chez des souris Kunning exposées par gavage à 0, 50, 100 et 200 mg.kg⁻¹.j⁻¹ d'un mélange d'isomères ramifiés de nonylphénol (85% d'isomères *para*) (Mao *et al.*, 2011). A la plus forte concentration, une diminution de l'exploration et de la locomotion a été mise en évidence (diminution significative des activités de toilettage, d'éducation des petits), ainsi qu'une détérioration de la capacité d'apprentissage spatial, de la mémoire et de l'activité locomotrice (labyrinthe de Morris). Le mélange d'isomères ramifiés de nonylphénol diminue significativement l'activité de la superoxyde dismutase (SOD), de la catalase et de la glutathion peroxidase aux 2 plus fortes doses et de la glutathion réductase à 200 mg.kg⁻¹.j⁻¹ et augmente la concentration de malondialdéhyde dans le cerveau des souris exposées à 100 et 200 mg.kg⁻¹.j⁻¹. Les auteurs concluent qu'une exposition chronique à de fortes doses de nonylphénols ramifiés peut engendrer un stress oxydatif et induire des déficits cognitifs.

5.4 Toxicité chronique et cancérogénicité

Selon l'UE, le caractère non mutagène des nonylphénols rend improbable le développement d'un cancer selon un mécanisme génotoxique dans la mesure où aucune étude à dose répétée n'a montré de prolifération ou d'hyperplasie cellulaire (CE, 2002b). Cependant, les nonylphénols présenteraient un **effet promoteur** *in vitro* et *in vivo*. *In vitro*, le test de transformation cellulaire, sur cellules de souris Balb/3T3 en culture, montre que le 4-NP n'est pas initiateur de la cancérogénèse mais est promoteur après induction par le 3-méthylcholanthrène (Sakai, 2001 cité dans INRS, 2006). *In vivo*, une étude chez des rats mâles exposés à 25 ou 250 ppm d'un mélange de nonylphénols à chaînes linéaires (n°CAS 25154-52-3) dans la nourriture pendant 28 jours montre une augmentation significative du nombre d'adénomes et de carcinomes pulmonaires (Seike *et al.*, 2003). De plus, l'index de prolifération des cellules pulmonaires et des cellules épithéliales du colon est significativement augmenté à 25 et 250 ppm. Dans une seconde expérience, des rats sont exposés à 250 ppm après une initiation par le DHPN (N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine). Le taux de 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine, marqueur d'un dommage oxydatif de l'ADN, est significativement augmenté au niveau du poumon.

Fukamachi *et al.* ont exposé des rats transgéniques (c-Ha-ras Tg¹⁸) à 25 mg.kg pc⁻¹ de DMBA (7,12-diméthylbenz[a]anthracène) pendant 1 jour puis à 10, 25, 100 ou 250 ppm de nonylphénol (forme non précisée) *via* l'alimentation pendant 8 ou 20 semaines. Une augmentation des tumeurs mammaires (adénocarcinomes et ensemble des tumeurs mammaires) a été rapportée uniquement à la plus faible dose de nonylphénol chez les rats femelles exposées au DMBA, suggérant selon les auteurs une promotion tumorale (Fukamachi *et al.*, 2004). Cet effet promoteur tumoral serait dû à des lésions de l'ADN induites par des radicaux oxygénés et à une augmentation de la prolifération cellulaire (INRS, 2006).

En revanche, certaines études ne plaident pas en faveur d'une activité promotrice. Inaguma *et al.* n'ont pas mis en évidence d'effet du 4-NP sur l'incidence, le nombre ou la localisation des cancers de la prostate induits par le DMAB (3,2'-diméthyl-4-aminobiphényl) chez des rats F344 âgés de 3

¹⁸ Rats portant des copies du proto-oncogène c-Ha-ras.

semaines exposés (0, 25, 250 ou 2000 ppm ; exposition *via* l'alimentation, 3 semaines) (Inaguma *et al.*, 2004).

Chez la souris, Acevedo *et al.* ont exposé par voie orale des souris transgénique MMTVNeu¹⁹ à 0, 30 ou 45 mg.kg⁻¹.j⁻¹ d'un mélange de nonylphénols à chaînes ramifiées contenant 85% d'isomères *para* pendant 32 semaines (Acevedo *et al.*, 2005). Une augmentation significative de l'incidence des cancers du sein a été mise en évidence à 45 mg.kg⁻¹.j⁻¹. Des métastases pulmonaires ont été rapportées chez deux souris à 45 mg.kg⁻¹.j⁻¹. Les souris exposées au mélange de nonylphénols ramifiés présentent une diminution du temps de latence avant le développement de tumeurs mammaires palpables par rapport aux témoins. Les auteurs concluent à l'existence d'un seuil de 45 mg.kg⁻¹.j⁻¹ pour la formation de tumeur.

Des rats Sprague-Dawley ont été exposés dans un premier temps à une injection de DMBA au niveau de l'ovaire gauche pour induire des tumeurs puis à 25 ou 250 ppm de 4-NP *via* l'alimentation (Tanaka *et al.*, 2002). L'incidence d'adénocarcinomes ovariens induits par le DMBA était de 35% à la fin de l'étude (51 semaines) mais seulement de 5% après administration de DMBA puis de 4-NP (25 et 250 ppm). Selon les auteurs, ces résultats suggèrent qu'une exposition à des composés œstrogéniques, comme le 4-NP, *via* l'alimentation pourrait agir comme un inhibiteur des tumeurs ovariennes induites par le DMBA.

5.5 Autres données

Génotoxicité

Les données de génotoxicité sont réduites à un petit nombre d'études *in vitro* et *in vivo*.

In vitro, deux tests d'Ames sur *Salmonella typhimurium* (Hüls *et al.*, 1984, Shimizu *et al.*, 1985 cité dans CE, 2002b) sont négatifs avec ou sans activation métabolique. Un test de mutation génique avec ou sans activation métabolique sur cellules V79 de hamster chinois (ligne directrice 476 OCDE) est également négatif (Hüls, 1990 cité dans CE, 2002b).

In vivo, deux tests de micronoyau (ligne directrice 474 OCDE) chez la souris (cellule de moelle osseuse), l'un par voie intra-péritonéale (50, 150 ou 300 mg.kg⁻¹) (Hüls, 1999b cité dans UE RAR, 2002), l'autre par voie orale (500 mg/kg) (Hüls, 1998 cité dans CE, 2002b) sont négatifs.

L'UE conclut que les nonylphénols ne sont pas génotoxiques dans les tests effectués *in vitro* et *in vivo*.

Quelques autres études ont mis en évidence des résultats positifs. Les nonylphénols induiraient des dommages à l'ADN au niveau de lymphocytes humains, de spermatozoïdes et de cellules de cancer du sein MCF-7 exposées *in vitro* aux nonylphénols (Santé Canada, 2001). Tayama *et al.* ont étudié la génotoxicité de plusieurs composés apparentés aux œstrogènes, dont le 4-NP, sur des cellules CHO-CK1 (échanges de chromatides sœurs, aberration chromosomique, test des comètes) et concluent que 4-NP entraîne des dommages à l'ADN non permanents et réparables dont des échanges de chromatides sœurs (Tayama *et al.*, 2008). Park *et al.* ont réalisé un test de viabilité cellulaire sur des cellules humaines HeLa exposées pendant 24 h au nonylphénol (forme

¹⁹ Souris transgénique MMTV neu (FVB/N-TgN(MMTVneu)202Mul) surexprime le proto-oncogène neu (ErbB2) sous contrôle du promoteur MMTV sur FVB/NJ.

non précisée) qui a permis de fixer une concentration inhibitrice 50 ($IC_{50} = 9,72 \mu M$) et de fixer les doses pour réaliser un test des comètes (IC_{50} , $\frac{1}{2} IC_{50}$, $\frac{1}{4} IC_{50}$). Le nonylphénol semble présenter un potentiel génotoxique à l' IC_{50} (Park et Choi, 2007).

Les principaux résultats sont résumés dans le tableau ci-après.

Tableau XII : Synthèse des résultats des tests de mutagénicité *in vitro* et *in vivo*

Population / Espèce	Type d'essai	Résultats	Références
<i>In vivo</i>			
Souris NMRI femelles (moelle osseuse)	Test micronoyau	-	Hüls, 1999b cité dans CE, 2002b
Souris NMRI femelles (moelle osseuse)	Test micronoyau	-	Hüls, 1988 cité dans CE, 2002b
<i>In vitro</i>			
<i>Salmonella typhimurium</i> (TA 1537, TA 1538, TA 98, TA 100)	Test d'Ames (+/- S9)	-	Hüls <i>et al.</i> , 1984 cité dans CE, 2002b
<i>Salmonella typhimurium</i> (TA 1537, TA 1538, TA 98, TA 100)	Test d'Ames (+/- S9)	-	Shimizu <i>et al.</i> , 1985 cité dans CE, 2002b
<i>Escherichia coli</i> (WP2urvA)	Test d'Ames (+/- S9)	-	Shimizu <i>et al.</i> , 1985 cité dans CE, 2002b
Cellules V79 de hamster chinois	Test de mutation génique (2,5 µg/L sans S9 ou 1,25 µg/L avec S9)	-	Hüls, 1990 cité dans CE, 2002b
Cellules humaines ♂ (sperme)	Test des Comètes	+	Anderson <i>et al.</i> , 1997 cité dans Santé Canada, 2001
Cellules humaines ♀ (lymphocytes périphériques)	Test des Comètes	+	Anderson <i>et al.</i> , 1997 cité dans Santé Canada, 2001
Cellules humaines HeLa	Test des Comètes	+	Park et Choi, 2007
Cellules CHO-K1	Échange de chromatides sœurs	+	Tayama <i>et al.</i> , 2008
Cellules CHO-K1	Aberration chromosomique	-	Tayama <i>et al.</i> , 2008
Cellules CHO-K1	Test des Comètes	+	Tayama <i>et al.</i> , 2008

- : résultat négatif ; + : résultat positif ; S9 : avec activation métabolique

Irritation et sensibilisation

Aucune donnée humaine n'est disponible.

Chez l'animal, il existe des études mettant en évidence une irritation cutanée, oculaire et respiratoire.

Au niveau de la peau, deux études menées chez le lapin (Union Carbide., 1992, Hüls., 1986 citées dans CE, 2002b) montrent la survenue d'une nécrose cutanée sur la zone en contact. Même si d'autres études (2 études avec une méthode équivalente à un test OCDE 404 et 3 non standardisées) (Enichem., 1992, Berd Kemi A.B., 1987, Gavorhi *et al.*, 1973, ICI, 1979, ICI, 1982 citées dans CE, 2002b) ne montrent que des lésions d'érythème ou d'induration, il est raisonnable de considérer le nonylphénol comme corrosif pour la peau.

Au niveau oculaire, deux études (Hüls, 1986, ICI, 1979 citées dans CE, 2002b) montrent de graves lésions conjonctivales, cornéennes et iridiennes chez le lapin. Le nonylphénol est un irritant oculaire sévère.

Au niveau de l'appareil respiratoire, une diminution du rythme respiratoire de 25% est notée chez la souris après une exposition nasale à la concentration de 3636 mg.m⁻³ alors qu'aucun

changement n'est noté à 267 mg.m⁻³ (ICI, 1995 citée dans CE, 2002b). L'exposition à des vapeurs saturées (400 ppm, 3636 mg.m⁻³) provoque une irritation sensorielle modérée du tractus respiratoire chez la souris avec un NOAEL de 30 ppm (267 mg.m⁻³) (CE, 2002b ; INRS, 2006). Le nonylphénol est considéré comme légèrement irritatif.

Il n'existe pas de données animales par inhalation pour la sensibilisation. En revanche, trois études par voie cutanée (Hüls, 1986c, ICI, 1979 et 1980 citées dans CE, 2002b) chez le cobaye, suggèrent que le nonylphénol ne présente pas de potentiel sensibilisant cutané significatif (CE, 2002b).

6 Biomonitoring

De nombreuses études ont mis en évidence du nonylphénol dans le sang, le sang de cordon, le sang maternel, les urines, le lait maternel ou encore dans le tissu adipeux (Tableau XIII).

Tableau XIII : Concentrations en nonylphénol retrouvés dans différentes matrices

Référence	Pays	Population étudiée	N	Échantillon	Méthode analytique	Type de nonylphénol	Concentration en nonylphénol			
							% >LD	Médiane	Min	Max
Sang										
Kawaguchi <i>et al.</i> , 2004 cité dans Lopez-Espinosa <i>et al.</i> , 2009	Japon	Individus sains, 24-25 ans	3	Sang (plasma)		Nonylphénol (forme non spécifiée)	100	-	0,2 ng.mL ⁻¹	0,3 ng.mL ⁻¹
Chen <i>et al.</i> , 2005	Taiwan	Agent d'entretien, échantillon collecté 2h avant la journée de travail	33	Sang (plasma)	Reversed-phase HPLC/FD (LD 0,36 ng.g ⁻¹ , taux de recouvrement 114,66+/-7,84%)	Nonylphénol (forme non spécifiée)	100	53,21 +/- 49,74 ng.g ⁻¹ (moy)	12,06 ng.g ⁻¹	284,74 ng.g ⁻¹
Lu <i>et al.</i> , 2006 (résumé)	Chine	Enfants (témoins)	42	Sang (sérum)	HPLC	4-nonylphénol			nd	6,77 ng.mL ⁻¹
		Enfants présentant une puberté précoce (cas)	79				Les niveaux en 4-NP sont significativement augmentés dans le groupe présentant une puberté précoce (p<0,01).			
Chen <i>et al.</i> , 2008	Taiwan	Femmes enceintes, 18-40 ans	42	Sang (plasma)	Reversed-phase HPLC/FD (LD 1,82 ng.g ⁻¹)	4-nonylphénol (isomère para >85%)	52,4	5,68 ng.g ⁻¹ (moy 5,79 ng.g ⁻¹)	nd	268 ng.g ⁻¹

Lin <i>et al.</i> , 2008 (résumé)	Chine	Femmes ayant accouché d'un nourrisson de faible poids	21	Sang maternel	Reversed-phase HPLC	4-nonylphénol	56,7	1,51 mg.mL ⁻¹	-	-
Gabos <i>et al.</i> , 2008	Canada	Femmes enceintes, 26-30 ans, dans le sud d'Alberta	-	Sang (sérum)	HPLC-MS (LD 2 ng.g ⁻¹)	Nonylphénol (forme non spécifiée)	75	3,0 ng.g ⁻¹	12 ng.g ⁻¹	80 ng.g ⁻¹
Gyllenhammar <i>et al.</i> , 2012	Suisse	Femmes allaitantes 3 semaines après accouchement, 22-41 ans	100	Sang (sérum)	HPLC-MSMS (LD 0,5 ng.g ⁻¹)	Nonylphénol libre	46	< LD	< LD	12 ng.g ⁻¹
					HPLC-MSMS (LD 0,8 ng.g ⁻¹)	Nonylphénol total	43	< LD	< LD	12,5 ng.g ⁻¹
					Parmi les participants ayant un niveau détectable de nonylphénol libre et total (n=38), 85% (médiane, 38-112%) de nonylphénol était sous forme libre.					
Sang de cordon										
Tan et Mohd, 2003	Malaisie	Femmes	180	Sang de cordon (plasma)	GC-MS (LD 0,05 ng.mL ⁻¹ , LQ 0,10 ng.mL ⁻¹ , taux de recouvrement 200+/-15%)	Nonylphénol (forme non spécifiée)	86	-	nd	15,17 ng.mL ⁻¹
Peters, 2005	Pays-Bas	Femmes	17	Sang de cordon (sérum)	LC/MS-SIM (LD 0,5 ng.g ⁻¹)	Nonylphénol (forme non spécifiée)	70,6	1,0 ng.g ⁻¹	0,5 ng.g ⁻¹	7,5 ng.g ⁻¹
Chen <i>et al.</i> , 2008	Taiwan	Femmes enceintes, centre de Taiwan	124	Sang de cordon (plasma)	Reversed-phase HPLC/FD (LD 1,82 ng.g ⁻¹ , taux de recouvrement 114,7+/-7,8%)	4-nonylphénol (isomère para >85%)	25,8	0,91 ng.g ⁻¹ (moy 2,69 ng.g ⁻¹)	nd	182 ng.g ⁻¹
		Femmes enceintes, nord de Taiwan	50				76	41,8 ng.g ⁻¹ (moy 12,9 ng.g ⁻¹)	nd	211 ng.g ⁻¹
		Femmes enceintes, 18-40 ans	42				52,4	2,95 ng.g ⁻¹ (moy 3,42 ng.g ⁻¹)	nd	100 ng.g ⁻¹

Lin <i>et al.</i> , 2008 (résumé)	Chine	Enfants de faible poids à la naissance	30	Sang de cordon	Reversed-phase HPLC	4-nonylphénol	56,7	1,12 mg.mL ⁻¹	-	-
--------------------------------------	-------	--	----	----------------	---------------------	---------------	------	--------------------------	---	---

nd : non détecté ; - : pas d'information

Référence	Pays	N	Méthode analytique	Type de nonylphénol	Concentration en nonylphénol					
					% >LD	Médiane	Min	Max		
Lait maternel										
Otaka <i>et al.</i> , 2003	Japon	3	GC-MS (LD 0,50 ng.g ⁻¹ , LQ 0,91 ng.g ⁻¹ , taux de recouvrement 89-97%)	4-nonylphénol (mélange d'isomères)	100	-	0,65 ng.g ⁻¹	1,4 ng.g ⁻¹		
Lin <i>et al.</i> , 2009	Taiwan	20	GC-MS (LD 0,3 ng.g ⁻¹ , LQ 1,2 ng.g ⁻¹ , taux de recouvrement 87+/-4%)	4-nonylphénol	95	4,4 +/- 2,03 ng.g ⁻¹ (n=19)	nd	11,6 ng.g ⁻¹		
Chen <i>et al.</i> , 2010	Taiwan	59	GC-MS (LD 0,3 ng.g ⁻¹ , LQ 1,2 ng.g ⁻¹ , taux de recouvrement 81-94%)	4-nonylphénol	86,4%	2,26 ng.g ⁻¹ (moy géométrique)	-	-		
Ademollo <i>et al.</i> , 2008	Italie	10	GC/MS (LD 9,8 ng.mL ⁻¹ , LQ 12,1 ng.mL ⁻¹ , taux de recouvrement 80+/-18%)	4-nonylphénol	100	32 ng.mL ⁻¹ (moy)	13,4 ng.mL ⁻¹	56,3 ng.mL ⁻¹		

nd : non détecté ; - : pas d'information

Référence	Pays	Population étudiée	N	Méthode analytique	Type de nonylphénol	Concentration en nonylphénol			
						% >LD	Médiane	Min	Max
Urines									
Kuklennyik <i>et al.</i> , 2003 cité dans Lopez-Espinosa <i>et al.</i> , 2009 et Asimakopoulos <i>et al.</i> , 2012	USA	Personnes peignant leurs maisons	30	Isotope dilution GC-CI-MS (LD _{4-NP} 5 ng.mL ⁻¹ , taux de recouvrement _{4-NP} 91-109%, LD _{4-n-NP} 0,1 ng.mL ⁻¹ , taux de recouvrement _{4-n-NP} 99-105%,)	4-nonylphénol 4-n-nonylphénol	Non détecté			
Inoue <i>et al.</i> , 2003	Japon	Volontaires sains	10	LC-ESI-MS (LD 0,1 ng.mL ⁻¹ , LQ 0,3 ng.mL ⁻¹)	4-nonylphénol (mélange)	Non détecté. Détection après déglucuronidation seul un sujet présente des traces de nonylphénol au niveau urinaire.			
Kawaguchi <i>et al.</i> , 2004 cité dans Lopez-Espinosa <i>et al.</i> , 2009	Japon	Individus sains, 22-24 ans	5	-	Nonylphénol (forme non spécifiée)	Non détecté			
Mao <i>et al.</i> , 2004 cité dans Lopez-Espinosa <i>et al.</i> , 2009	Chine	Hommes, 21-29 ans	10	-	Nonylphénol (forme non spécifiée)	50	0,38 +/- 0,8 ng.mL ⁻¹ (moy)	nd	2,3 ng.mL ⁻¹
		Femmes, 21-29 ans	10	-	Nonylphénol (forme non spécifiée)	70	0,05 +/- 0,05 ng.mL ⁻¹ (moy)	nd	0,14 ng.mL ⁻¹
Calafat <i>et al.</i> , 2005	USA	≥ 6 ans (NHANES III)	371	GC/MS (LD 0,1 µg.L ⁻¹ , taux de recouvrement 80+/-18%)	4n-nonylphénol (isomère à chaîne linéaire)	51	< LD (IC _{95%} nd-1,6)	-	1,57 µg.L ⁻¹ (P ₉₅) (1,39 µg/g de créat.)
Chen <i>et al.</i> , 2005	Taiwan	Travailleurs du textile, échantillon collecté 2h avant la journée de travail (groupe témoin)	40	Reversed-phase HPLC/FD (LD 1,60 ng.g ⁻¹ , taux de recouvrement 108,73+/-6,04%)	Nonylphénol (forme non spécifiée)	90	21 +/-18 ng.mL ⁻¹ (moy)	nd	71,9 ng.mL ⁻¹
		Travailleurs du textile, échantillon collecté 7-8h après la journée de travail (groupe exposé)	40		Nonylphénol (forme non spécifiée)	-	38 +/- 46 ng.mL ⁻¹ (moy)	-	-

		Agent d'entretien, échantillon collecté 2h avant la journée de travail	29		Nonylphénol (forme non spécifiée)	97	6,25 +/-4,83 ng.mL ⁻¹ (moy)	nd	36,67 ng.mL ⁻¹
Kawaguchi <i>et al.</i> , 2005 cité dans Lopez-Espinosa <i>et al.</i> , 2009	Japon	Individus sains	5		Nonylphénol (forme non spécifiée)	100	-	1,04 ng.mL ⁻¹	2,0 ng.mL ⁻¹
Kawaguchi <i>et al.</i> , 2006 cité dans Lopez-Espinosa <i>et al.</i> , 2009	Japon	Individus sains, 22-25 ans	6		Nonylphénol - glucuronide	100	-	< 1,1 ng.mL ⁻¹	2,1 ng.mL ⁻¹
Chen <i>et al.</i> , 2009	Taiwan	Écoliers, 10 à 14,8 ans	608	Reversed-phase HPLC/FD (LD 1,62 µg.L ⁻¹)	p-nonylphénol	29,81	0,89 µg.g ⁻¹ créat (moy géométrique 1,27)	nd	178,25 µg.g ⁻¹ créat
Jing <i>et al.</i> , 2011	Chine	Hommes sains, 20-70 ans	60 (26 ♂, 34 ♀)	UPLC-MS/MS (LD 0,1 ng.mL ⁻¹ , taux de recouvrement 81,3-109%)	Nonylphénol (forme non spécifiée)	-	-	1,69 ng.mL ⁻¹	20,8 ng.mL ⁻¹
		Femmes sains, 20-70 ans				-	-	1,86 ng.mL ⁻¹	27,8 ng.mL ⁻¹
Pirard <i>et al.</i> , 2012	Belgique	Hommes et femmes, 1-75 ans	131	GC-MS/MS (LD 0,23 µg.L ⁻¹ , LQ 0,68 µg.L ⁻¹)	4-nonylphénol	Non détecté			
Li <i>et al.</i> , 2013	Chine	Enfants et étudiants, 3-24 ans	287	GC-MS (LD 3,8 ng.L ⁻¹ , taux de recouvrement >93%)	4-nonylphénol total (libre + conjugué)	100	15,92 µg.g ⁻¹ créat. (17,40 µg.L ⁻¹) (moy)	1,01 µg.g ⁻¹ créat.	446,39 µg.g ⁻¹ créat.

nd : non détecté ; - : pas d'information

Référence	Pays	Population étudiée	N	Échantillon	Méthode analytique	Type de nonylphénol	Concentration en nonylphénol			
							% >LD	Médiane	Min	Max
Tissu adipeux										
Müller <i>et al.</i> , 1998	Suisse	15 hommes, 13 femmes, 3-100 ans	25	Tissu adipeux (cadavre)	GC-MS (taux de recouvrement 91+/-10%)	4-nonylphénol	100	37 ng.g ⁻¹	19,8 ng.g ⁻¹	84,4 ng.g ⁻¹
Lopez-Espinosa <i>et al.</i> , 2009	Espagne	Femmes, 24-81 ans, non exposées professionnellement	20	Tissu adipeux	GC-MS (LD 10,5 ng.g ⁻¹ , taux de recouvrement 70%)	4-nonylphénol	100	57 ng.g ⁻¹ (moy 82 ng.g ⁻¹)	10 ng.g ⁻¹	567 ng.g ⁻¹
Ferrara <i>et al.</i> , 2011	Italie	3 hommes, 13 femmes, 34-68 ans	16	Tissu adipeux	GC-MS (LD 12,4 µg.kg ⁻¹ , taux de recouvrement 91+/-12%)	Nonylphénol (forme non spécifiée)	100	108,6 ng.g ⁻¹ (moy 122,3 ng.g ⁻¹)	9,8 ng.g ⁻¹	226,5 ng.g ⁻¹
Geens <i>et al.</i> , 2012	Belgique	8 hommes, 3 femmes, 6-62 ans	11	Tissu adipeux (cadavre)	GC-ECNI/MS (LQ 0,004 ng.g ⁻¹ , taux de recouvrement 95-101%)	4-nonylphénol	72,7	0,007 ng.g ⁻¹ (moy 0,025 ng.g ⁻¹)	<LQ	0,161 ng.g ⁻¹
Foie										
Geens <i>et al.</i> , 2012	Belgique	8 hommes, 3 femmes, 9-62 ans	11	Foie (cadavre)	GC-ECNI/MS (LQ 0,003 ng.g ⁻¹ , taux de recouvrement 92-96%)	4-nonylphénol (libre)	100	0,023 ng.g ⁻¹ (moy 0,046)	0,008 ng.g ⁻¹	0,208 ng.g ⁻¹
					GC-ECNI/MS (LQ 0,003 ng.g ⁻¹ , taux de recouvrement 94-102%)	4-nonylphénol total (libre et conjugué)	90,9	0,017 ng.g ⁻¹ (moy 0,198)	<LQ	1,401 ng.g ⁻¹

nd : non détecté

7 Mécanisme d'action/interaction avec les récepteurs

Le mécanisme d'action des nonylphénols sur l'appareil reproducteur mâle est encore peu clair. Plusieurs hypothèses existent. Certains auteurs font l'hypothèse que les effets œstrogéniques du nonylphénol pourraient entraîner une perturbation endocrinienne (Kwack *et al.*, 2002), d'autres se penchent sur une cytotoxicité du nonylphénol. Plusieurs auteurs indiquent que le nonylphénol induit un phénomène d'apoptose *in vivo* dans des thymocytes de rat (Yao et Hou, 2004) et *in vitro* dans différents types de cellules telles que des cellules de Sertoli de rat (Gong *et al.*, 2009), des cellules souches embryonnaires humaines (Kim *et al.*, 2006), des cellules Jurkat²⁰ (Yao *et al.*, 2007), des thymocytes de souris ou de rat (Yao *et al.*, 2005 et 2006), des cellules cancéreuses gastriques humaines (Kuo *et al.*, 2010). Ainsi, Gong *et al.* ont observé une augmentation significative de la proportion de cellules apoptotiques (à 20 et 30 μM), celles-ci présentant des modifications morphologiques (formation de corps apoptotiques, condensation et modifications marginales de la chromatine) (Gong *et al.*, 2009). L'induction de l'apoptose passerait par l'activation des caspases (caspase 8, 3), l'interaction de Fas et de son ligand et une dépolarisation membranaire mitochondriale.

Enfin, certains auteurs considèrent un mécanisme passant par un stress oxydant (Okai *et al.*, 2004 ; Chitra et Mathur, 2004 résumé ; Gong et Han, 2006 ; El-Dakdoky *et al.*, 2007 ; Korkmaz *et al.*, 2009 ; Aydogan *et al.*, 2008 et 2010 ; Qi *et al.*, 2011). Ainsi, un stress oxydant a été mis en évidence au niveau de testicules de rats exposés par voie orale à 25 $\text{mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ d'un mélange de nonylphénols à chaînes ramifiées (n°CAS 84852-15-3) (augmentation significative des concentrations en malondialdéhyde, diminution significative des niveaux en GSH) (Aydogan *et al.*, 2010). Des résultats similaires ont été mis en évidence dans les tissus testiculaires de souris exposées à 21,25 et 42,5 $\text{mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ de 4-NP (augmentation significative des concentrations en malondialdéhyde, diminution significative des niveaux en GSH et de l'activité de superoxyde dismutase (SOD) (El-Dakdoky *et al.*, 2007) et au niveau de testicules de rats exposés par voie orale à 1, 10 et 100 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ de nonylphénol (forme non précisée) (diminution significative de l'activité de superoxyde dismutase et de la glutathion réductase, augmentation de la peroxydation des lipides) (Chitra et Mathur, 2004 résumé). Gong et Han ont également mis en évidence un stress oxydant au niveau de cellules de Sertoli de rat exposés *in vitro* à du 4-NP (10-40 μM , 24 h) (Gong et Han, 2006).

Le nonylphénol entraînerait un stress oxydant également chez des rats Wistar exposés à 25 $\text{mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ d'un mélange de nonylphénols à chaînes ramifiées (n°CAS 84852-15-3) (augmentation significative des concentrations en malondialdéhyde, diminution significative des niveaux en GSH) au niveau rénal (Korkmaz *et al.*, 2009) et au niveau cérébral (Aydogan *et al.*, 2008). Le mélange d'isomères ramifiés de nonylphénol (85% d'isomères *para*) induit également un

²⁰ lignée cellulaire lymphocytaire T humain.

stress oxydant dans le cerveau chez des souris Kunning (diminution significative de la superoxyde dismutase, de la catalase et de glutathion peroxydase à 100 et 200 mg.kg⁻¹.j⁻¹ et de la glutathion réductase à 200 mg.kg⁻¹.j⁻¹, augmentation significative du malondialdéhyde à 100 et 200mg.kg⁻¹.j⁻¹) (Mao *et al.*, 2011).

Le 4-NP augmenterait la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans des neutrophiles sanguins humains exposés à 5, 10, 20 et 50 µM et dans le sang humain à 50, 100, 250 et 500 µM (Okai *et al.*, 2004). Une augmentation significative de ROS intracellulaires a été rapportée dans des cellules Raji (lignée cellulaire lymphoblastoïde humaine) exposées 24h *in vitro* à 0, 10, 50, 100 et 200 µM de 4-NP (Qi *et al.*, 2011). L'accumulation de ces ROS dans les cellules était augmentée de façon dose dépendante. Une diminution significative et dose dépendante de la viabilité de ces cellules a été mise en évidence à toutes les doses testées.

8 Résumé des effets observés

Les nonylphénols constituent une famille de composés présentant une structure chimique commune, un noyau phénolique et une chaîne carbonée linéaire ou ramifié. Le groupe de travail souligne qu'il est souvent difficile de connaître les isomères de nonylphénol testés dans les études. Parmi les nonylphénols, le 4-NP (n°CAS 104-40-5) a été classé comme perturbateur endocrinien de catégorie 1 par le DHI et le BKH. Le BKH a également classé le mélange de nonylphénols à chaînes linéaires (n°CAS 25154-52-3) en catégorie 1.

Chez l'Homme et l'animal, l'absorption par le tractus gastro-intestinal est rapide et importante. Les propriétés physico-chimiques de ces composés sont compatibles avec une absorption respiratoire potentiellement importante. La pénétration cutanée²¹ est légèrement plus importante (3 % chez le porc, 6 % chez le rat, 4 % chez l'Homme). L'absorption²² par la peau est faible, que ce soit avec la peau de porc, de rat (<0,15 %) ou humaine (0,1 %). Les nonylphénols restent dans le stratum corneum (2 % chez le porc, 0,5 % chez le rat et 1,7 % dans la peau humaine). Les taux d'absorption retenus pour les voies orale, inhalée et cutanée sont respectivement de 100 %, 100 % (par défaut) et 10 % (par défaut). En outre, une biodisponibilité de 10 % par voie orale est retenue (CE, 2002b).

Chez l'Homme comme chez l'animal, les nonylphénols sont largement distribués dans le corps, et principalement dans les graisses. De plus, ils passeraient la barrière placentaire. Les nonylphénols subiraient un effet de premier passage hépatique important cohérent avec la faible biodisponibilité par voie orale (<10-20% de la dose) du nonylphénol non conjugué. Le métabolisme principal passe par une glucurono- et une sulfo-conjugaison. D'autres voies de métabolisation existent pour les composés alkylés (ex. forme méthylée majoritaire sur la chaîne linéaire). Chez le rat, l'excrétion se fait essentiellement *via* les fèces (70%) mais également *via* les urines (5-20%). Il n'y a pas d'élimination par l'air exhalé. Chez l'Homme, 10% de la dose orale sont éliminés dans l'urine, sous forme conjuguée ou non, dans les 8 premières heures. Seul 1,5 % de la dose sont éliminés par les fèces en 56 h.

Deux VTR sont proposées par l'Anses, une pour les composés linéaires et une pour les composés ramifiés, en se basant sur des effets reprotoxiques observés chez le rat. Les effets observés chez le rat ont été considérés pertinents pour l'Homme et retenus comme effets critiques. Compte tenu des effets sur le développement et de la fenêtre d'exposition critique correspondant à la période de gestation, les VTR sont applicables pour une exposition subchronique.

²¹ Entrée d'une substance dans la couche cornée de la peau (diffusion passive).

²² Comprend la pénétration cutanée, la perméation (migration d'une couche à l'autre) et la résorption (passage dans la circulation sanguine) d'une substance chimique au travers de la peau.

Le groupe de travail sur les perturbateurs endocriniens a pris en compte uniquement les études publiées depuis la construction des VTR établies par l'Agence pour les effets sur le développement et la reproduction. En ce qui concerne les effets perturbateurs endocriniens, seules les études publiées depuis le risk assessment report de l'UE (2002) ont été décrites.

Plusieurs études réalisées chez des rats Sprague-Dawley exposés en péri-, post-natal ou sur plusieurs générations par voie orale à au moins $50 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ de nonylphénol ont mis en évidence des effets sur l'appareil reproducteur femelle (ouverture vaginale précoce, modification de la durée du cycle œstral, diminution du poids absolu et relatif des ovaires sans atteinte histologique associée, diminution de la LH sérique) (Nagao *et al.*, 2001 ; Laws *et al.*, 2000 ; Kim *et al.*, 2002 ; Chapin *et al.*, 1999). Plusieurs études ont mis en évidence des modifications histologiques sur la glande mammaire à des doses plus faibles ($10 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$, Moon *et al.*, 2007).

Plusieurs études chez différentes souches de rat exposées en pré et/ou post-natale ou sur plusieurs générations ont décrit des effets sur l'appareil reproducteur mâle à partir de $15 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ tels qu'une diminution du poids des testicules, de l'épididyme et de la prostate (poids absolu et/ou relatif), des altérations de la spermatogénèse avec un retentissement sur la production spermatique, une descente testiculaire précoce et une diminution de la testostérone sérique et des lésions de la prostate, (NTP, 1997 ; Chapin *et al.*, 1999 ; De Jagger *et al.*, 1999 a et b ; Hossaini *et al.*, 2001 ; Fan *et al.*, 2001 résumé ; Tan *et al.*, 2003 ; Han *et al.*, 2004 ; Zhang *et al.*, 2003 et 2006 résumé ; Qiu *et al.*, 2005 résumé ; McClusky *et al.*, 2007 ; Woo *et al.*, 2007 ; Mehranjani *et al.*, 2009 ; Aydogan *et al.*, 2010 ; De Jie *et al.*, 2010 ; Aly *et al.*, 2012).

Des effets néphrotoxiques, ont été mis en évidence, entre autres dans une étude sur 3 générations (Chapin *et al.*, 1999) à des niveaux de doses comparables ($15 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$) pour toutes les générations. Des effets neurocomportementaux ont été mis en évidence suite à une exposition gestationnelle et lactationnelle à de faibles niveaux de nonylphénol ($0,1 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$) (Negishi *et al.*, 2004).

Des effets adipogènes ont été rapportés lors d'une exposition périnatale au 4NP sur deux générations de rats Wistar (Zhang *et al.*, 2014). La génération F1 a été exposée par gavage ($0,5 \text{ mL/kg}$) des mères F0, de GD6 à PND21, avec une alimentation dépourvue de phytoestrogènes contenant du 4NP, aux doses de 0 (huile d'olive), 5, 25 et 125 µg/kg/j .

Selon l'UE, le caractère non mutagène des nonylphénols rend improbable le développement d'un cancer selon un mécanisme génotoxique dans la mesure où aucune étude à dose répétée n'a montré de prolifération ou d'hyperplasie cellulaire (CE, 2002b). Cependant, les nonylphénols présenteraient un **effet promoteur** *in vitro* et *in vivo*.

Les doses critiques et les effets associés décrits dans les différentes études sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau XIV : Tableau récapitulatif des doses critiques issues de données expérimentales

Type d'effet	Dose critique Type d'étude/ Voie d'exposition Espèce	Effet observé
Effet lié à une exposition pré-natale	NOAEL = 3 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹ LOAEL = 15 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹ Étude de toxicité pré-natale par gavage chez le rat Wistar exposé de GD11-18 à du 4-NP (n°CAS 104-40-5) (Hossaini <i>et al.</i> , 2001)	↘ dose-dépendante du poids absolu de l'épididyme mais pas du poids relatif (PND 110)
	LOAEL = 10 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ Étude de toxicité sur le développement par voie orale chez le rat Long Evans exposé de GD15-19 à un mélange d'isomères ramifiés du nonylphénol (mélange de composés ramifiés dont 85% d'isomère <i>p</i>) (Moon <i>et al.</i> , 2007) <i>Étude clé pour la construction de la VTR reprotoxique élaborée par l'Afsset</i>	Effets sur le développement précoce de la glande mammaire chez les F1.. Atteinte maternelle : ND
Effet lié à une exposition post-natale précoce	-	-
Effet lié à une exposition péri-natale Reprotoxicité	NOAEL = 10 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ LOAEL = 50 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ Étude de toxicité par gavage sur deux générations chez des rats Sprague-Dawley exposées de manière continue de la première dose administrée aux F0 jusqu'à l'autopsie des F2 (PND21) à un mélange d'isomères linéaires du nonylphénol (n°CAS 25154-52-3) (Nagao <i>et al.</i> , 2001) <i>Étude clé pour la construction de la VTR reprotoxique élaborée par l'Afsset</i>	↘ LH sérique + ouverture vaginale précoce + ↘ poids absolu et relatif des ovaires sans atteintes histologiques (F1 ♀) ; ↘ nombre de petits par portée et du nombre de sites d'implantation (F2) Sans atteinte maternelle
Métabolisme	LOAEL = 5 µg/kg/j Etude de toxicité par voie orale (gavage) chez les rats Wistar. Les F1 ont été exposés à 4NP (n° CAS 84852-15-3, mélange de linéaire et de ramifié) via l'alimentation des mères de GD6 à PND21 aux doses de 0, 5, 25 et 125 µg/kg/j. Les F2 ont été obtenus en croisant les F1 mâles et femelles contrôles (F2 contrôles) et en croisant des femelles F1 exposées et des F1 mâles contrôles (F2 exposées) (Zhang <i>et al.</i> , 2014)).	Effets adipogène/obésogène <ul style="list-style-type: none"> - Augmentation du poids corporel - Augmentation de la masse du tissu adipeux - Augmentation des hormones et facteurs pro-adipogènes - Augmentation du volume des adipocytes Augmentation de la glycémie

Neurocomportemental	LOAEL = 0,1 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ Étude de toxicité par voie orale de 4-NP chez des rats F344 exposés de GD3 à PND20 (Negishi <i>et al.</i> , 2004)	Modifications du comportement, en particulier suite à un stimulus provoquant la peur (choc électrique) + léger déficit de réponses d'évitement Atteinte maternelle : ND
Toxicité pré-pubertaire	-	-
Marqueurs de perturbation endocrinienne	NOAEL = 10 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ LOAEL = 100 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ NOAEL = 100 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ LOAEL = 1000 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ Test utérotrrophique par voie orale ou sous-cutanée chez des rats Sprague-Dawley exposés au 4-NP (Kang <i>et al.</i> , 2000)	↗ de poids humide de l'utérus chez rat immature (voie sous cutanée) ↗ poids humide de l'utérus chez rat ovariectomisée (voie sous cutanée) et chez rat immature (voie orale)
	LOAEL = 25 ppm Etude sur 3 générations <i>via</i> l'alimentation chez des rats SD exposés de GD0 à PND2 au mélange de 4-NP ramifiés (95% d'isomères à chaîne ramifiée de 4-NP et 5% d'isomères à chaîne ramifiée de 2-NP) (Laurenzana <i>et al.</i> , 2002)	↘ testostérone sérique chez F1 (pas chez F2 et F3)
	NOAEL = 10 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹ LOAEL = 50 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹ Étude de toxicité répétée sur 28 jours sur des rats Sprague-Dawley exposés par gavage à d'un mélange de nonylphénols à chaîne ramifiée (n°CAS 84852-15-3) (Woo <i>et al.</i> , 2007)	↗ du poids absolu et relatif de la thyroïde chez les mâles + faible ↗ de la LH sérique chez les femelles

ND : non décrit

9 Conclusion

Le LOAEL de 10 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ retenu dans l'étude de Moon *et al.* (2007) est fondé sur le développement précoce de la glande mammaire chez le rat de la génération F1. Cette étude a également été retenue comme étude clef pour la construction de la VTR reprotoxique élaborée par l'Agence.

L'étude de Nagao *et al.* (2001) a été retenue comme étude clé pour construire la VTR reprotoxique élaborée par l'Agence. Le NOAEL de 10 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ retenu dans cette étude est fondé sur la diminution de la LH sérique et sur une ouverture vaginale précoce chez le rat de la génération F1.

Le NOAEL de 10 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ retenu dans l'étude de Woo *et al.* (2007) est fondé sur l'augmentation du poids absolu et relatif de la thyroïde chez les mâles et une faible augmentation de la LH sérique chez les femelles.

Conditions d'exposition (substance, véhicule, voie, durée du traitement, période d'exposition, espèce)	Type d'effet	NOAEL ou LOAEL	Nature d'effet	Population cible correspondante	Références
Nonylphénols ramifiés (n°CAS 90481-04-2 et 84852-15-3), Voie orale (gavage dans l'huile de maïs), du 15 ^{ème} au 19 ^{ème} jour de gestation, rat	Effet lié à une exposition pré-natale.	LOAEL = 10 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	Développement précoce de la glande mammaire chez les F1.	Femmes enceintes, allaitantes et en âge de procréer	Moon <i>et al.</i> , 2007
Nonylphénols linéaires (n°CAS 104-40-5 et 25154-52-3), Voie orale (gavage dans l'huile de maïs), exposition sur 2 générations de manière continue de la première dose administrée aux F0 jusqu'à l'autopsie des F2 (PND21), rat	Effet lié à une exposition péri-natale	NOAEL = 10 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	↘ LH sérique, ouverture vaginale précoce, diminution du poids absolu et relatif des ovaires sans atteintes histologiques chez les femelles F1 ↘ du nombre de petits par portée et du nombre de sites d'implantation dans la génération F2	Femmes enceintes, allaitantes et en âge de procréer	Nagao <i>et al.</i> , 2001
Nonylphénols ramifiés (n°CAS 84852-15-3), voie orale (gavage dans l'huile d'olive), 28 jours, rat	Marqueurs de perturbation endocrinienne	NOAEL = 10 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	↗ du poids absolu et relatif de la thyroïde chez les mâles, faible ↗ de la LH sérique chez les femelles	Adultes	Woo <i>et al.</i> , 2007

A noter que l'étude de Zhang *et al.* (2014) montre des effets induits par le 4-NP à des niveaux de dose de l'ordre du µg/kg/j. Si ces effets sont confirmés par d'autres données, il conviendra de revoir l'effet critique retenu.

Date de validation du rapport d'expertise collective par :

- le groupe de travail : **Perturbateurs endocriniens**
- le comité d'experts spécialisé : 12 mars 2015

Signatures :

Maisons-Alfort, le _____ ,

Au nom des experts du GT
« Perturbateurs endocriniens »,

C EMOND
Le président du GT

Maisons-Alfort, le _____ ,

Au nom des experts du CES
« Caractérisation des dangers des substances et
valeurs toxicologiques de référence »,

M Guerbet
Le président du CES

10 Bibliographie

Date de fin de la bibliographie : septembre 2014

- Ferrara F, Fabietti F, Funari E. (2008) Nonylphenol and octylphenol in human breast milk. *Environ Int.* 34(7):984-7.
- Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (Afsset) (2009) Valeurs toxicologiques de référence (VTR) fondées sur les effets reprotoxiques. Elaboration de VTR reprotoxiques pour le linuron, le di-n-butylphtalate, le benzylbutylphtalate, les nonylphénols, le toluène et l'éther éthylique de l'éthylène glycol. Saisine n°2003/SA03. Rapport d'expertise collective. Novembre 2009. (Afsset, Maisons-Alfort) 138 p.
- Aly HA, Banjar ZM. (2012) Effect of nonylphenol on male reproduction: Analysis of rat epididymal biochemical markers and antioxidant defense enzymes. *Toxicol Appl Pharmacol.* 261(2):134-41.
- Asimakopoulos AG, Thomaidis NS, Koupparis MA. (2012) Recent trends in biomonitoring of bisphenol A, 4-t-octylphenol, and 4-nonylphenol. *Toxicol Lett.* 210(2):141-54.
- Aydoğan M, Korkmaz A, Barlas N, Kolankaya D. (2008) The effect of vitamin C on bisphenol A, nonylphenol and octylphenol induced brain damages of male rats. *Toxicology.* 249(1):35-9.
- Aydoğan M, Korkmaz A, Barlas N, Kolankaya D. (2010) Pro-oxidant effect of vitamin C coadministration with bisphenol A, nonylphenol, and octylphenol on the reproductive tract of male rats. *Drug Chem Toxicol.* 33(2):193-203.
- Balakrishnan B, Thorstensen E, Ponnampalam A, Mitchell MD. (2011) Passage of 4-nonylphenol across the human placenta. *Placenta.* 32(10):788-92.
- Bonefeld-Jørgensen EC, Long M, Hofmeister MV, Vinggaard AM. (2007) Endocrine-disrupting potential of bisphenol A, bisphenol A dimethacrylate, 4-nonylphenol, and 4-n-octylphenol in vitro: new data and a brief review. *Environ Health Perspect.* 115 Suppl 1:69-76.
- Calafat AM, Kuklennyik Z, Reidy JA, Caudill SP, Ekong J, Needham LL. (2005) Urinary concentrations of bisphenol A and 4-nonylphenol in a human reference population. *Environ Health Perspect.* 113(4):391-5.
- Chang LL, Wun WS, Wang PS. (2012) In utero and neonate exposure to nonylphenol develops hyperadrenalism and metabolic syndrome later in life. I. First generation rats (F(1)). *Toxicology.* 301(1-3):40-9.
- Chapin RE, Delaney J, Wang Y, Lanning L, Davis B, Collins B, Mintz N, Wolfe G. (1999) The effects of 4-nonylphenol in rats: a multigeneration reproduction study. *Toxicol Sci.* 52(1):80-91.
- Chen ML, Lee WP, Chung HY, Guo BR, Mao IF. (2005) Biomonitoring of alkylphenols exposure for textile and housekeeping workers. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 85, 335–347
- Chen ML, Lee HY, Chuang HY, Guo BR, Mao IF. (2009) Association between nonylphenol exposure and development of secondary sexual characteristics. *Chemosphere.* 76(7):927-31.

- Chitra KC, Mathur PP. (2004) Vitamin E prevents nonylphenol-induced oxidative stress in testis of rats (résumé). *Indian J Exp Biol.* 42(2):220-3.
- Commission européenne (CE) DG Environnement (2000) Towards the establishment of a priority list of substances for further evaluation of their role in endocrine disruption - preparation of a candidate list of substances as a basis for priority setting. Final report. RPS BKH Consulting Engineers, No. M0355008/1786Q/10/11/00 (RPS BKH Consulting Engineers, Delft)
- Commission européenne (CE) DG Environnement (2002a) Endocrine Disrupters: study on gathering information on 435 Substances with insufficient data. Final report. RPS BKH Consulting Engineers, No. B4-3040/2001/325850/MAR/C2 (RPS BKH Consulting Engineers, Delft)
- Commission européenne (CE) Joint Research Centre (2002b) European Union Risk Assessment Report. 4-nonylphenol (branched) and nonylphenol. Office for Official Publications of the European Communities, No. EUR 20387 EN (Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg)
- Cunney HC, Mayes BA, Rosica KA, Trutter JA, Van Miller JP. (1997) Subchronic toxicity (90-day) study with para-nonylphenol in rats. *Regul Toxicol Pharmacol.* 26(2):172-8.
- Danish EPA (2000) Toxicological Evaluation and Limit Values for Nonylphenol, Nonylphenol Ethoxylates, Tricresyl, Phosphates and Benzoic Acid. Environmental Project No. 512 2000 Miljøprojekt
- DHI Water & Environment (DHI) (2007) Study on enhancing the Endocrine Disrupter priority list with a focus on low production volume chemicals. DHI, No. ENV.D.4/ETU/2005/0028r (DHI, Horsholm)
- Dobrzyńska MM. (2012) Male-mediated F1 effects in mice exposed to nonylphenol or to a combination of X-rays and nonylphenol. *Drug Chem Toxicol.* 35(1):36-42.
- Doerge DR, Twaddle NC, Churchwell MI, Chang HC, Newbold RR, Delclos KB. (2002) Mass spectrometric determination of p-nonylphenol metabolism and disposition following oral administration to Sprague-Dawley rats. *Reprod Toxicol.* 16(1):45-56.
- ECHA CHEM. (2012) Phenol, 4-nonyl-, branched. Consulté le 20 mars 2012 http://apps.echa.europa.eu/registered/data/dossiers/DISS-a0032507-57d5-4c34-e044-00144f67d031/DISS-a0032507-57d5-4c34-e044-00144f67d031_DISS-a0032507-57d5-4c34-e044-00144f67d031.html.
- El-Dakdoky MH, Helal MA. (2007) Reproductive toxicity of male mice after exposure to nonylphenol. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2007 Aug;79(2):188-91.
- Fan Q, Li W, Shen L. (2001) Adverse effects of exposure to p-nonylphenol on reproductive system of young male rats. Article en chinois. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.* 35(5):344-6.
- Ferguson SA, Flynn KM, Delclos KB, Newbold RR. (2000) Maternal and offspring toxicity but few sexually dimorphic behavioral alterations result from nonylphenol exposure. *Neurotoxicol Teratol.* 22(4):583-91.
- Ferguson SA, Delclos KB, Newbold RR, Flynn KM. (2009) Few effects of multi-generational dietary exposure to genistein or nonylphenol on sodium solution intake in male and female Sprague-Dawley rats. *Neurotoxicol Teratol.* 31(3):143-8.
- Ferrara F, Ademollo N, Orrù MA, Silvestroni L, Funari E. (2011) Alkylphenols in adipose tissues of Italian population. *Chemosphere.* 2011 Feb;82(7):1044-9.
- Flynn KM, Newbold RR, Ferguson SA. (2002) Multigenerational exposure to dietary nonylphenol has no severe effects on spatial learning in female rats. *Neurotoxicology.* 23(1):87-94.
- Freyberger A, Ellinger-Ziegelbauer H, Krötlinger F. (2007) Evaluation of the rodent Hershberger bioassay: testing of coded chemicals and supplementary molecular-biological and biochemical investigations. *Toxicology.* 239(1-2):77-88.
- Freyberger A, Schladt L. (2009) Evaluation of the rodent Hershberger bioassay on intact juvenile males--testing of coded chemicals and supplementary biochemical investigations. *Toxicology.* 262(2):114-20.

- Fukamachi K, Han BS, Kim CK, Takasuka N, Matsuoka Y, Matsuda E, Yamasaki T, Tsuda H. (2004) Possible enhancing effects of atrazine and nonylphenol on 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary tumor development in human c-Ha-ras proto-oncogene transgenic rats. *Cancer Sci.* 95(5):404-10.
- Gabriel et Kohler (2009) Nonylphénols : bio-dégradation et effet oestrogénique. *Eawag News* 66f. 28-30
- Gabriel FL, Routledge EJ, Heidelberger A, Rentsch D, Guenther K, Giger W, Sumpter JP, Kohler HP. (2008) Isomer-specific degradation and endocrine disrupting activity of nonylphenols. *Environ Sci Technol.* 42(17):6399-408.
- Gabos S, Zemanek M, Cheperdak L, Kinniburgh D, Lee B, Hrudey S, Le C, Li XF, Mandal R, Martin JW, Schopflocher D. (2008) Chemical Biomonitoring in Serum of Pregnant Women in Alberta (2005): Influence of Age, Location and Seasonality, A Final Report. Submitted to Alberta Health and Wellness May 2008. Conducted and Prepared Under Guidance of the Alberta Biomonitoring Committee: Alberta Health and Wellness. <http://www.health.alberta.ca/documents/Chemical-Biomonitoring-2008.pdf>
- Geens T, Neels H, Covaci A. (2012) Distribution of bisphenol-A, triclosan and n-nonylphenol in human adipose tissue, liver and brain. *Chemosphere.* 87(7):796-802.
- Gong Y, Han XD. (2006) Nonylphenol-induced oxidative stress and cytotoxicity in testicular Sertoli cells. *Reprod Toxicol.* 22(4):623-30.
- Gong Y, Wu J, Huang Y, Shen S. (2009) Nonylphenol induces apoptosis in rat testicular Sertoli cells via endoplasmic reticulum stress. *Toxicol Lett.* 186(2):84-95.
- Graham LA, Shaw IC. (2011) Does the oestrogen receptor encourage oestrogenicity in environmental pollutants? The case of 4-nonylphenol. *SAR QSAR Environ Res.* 22(3):329-50.
- Green T, Swain C, Van Miller JP, Joiner RL. (2003). Absorption, bioavailability, and metabolism of para-nonylphenol in the rat. *Regul Toxicol Pharmacol.* 38(1):43-51.
- Gyllenhammar I, Glynn A, Darnerud PO, Lignell S, van Delft R, Aune M. (2012) 4-Nonylphenol and bisphenol A in Swedish food and exposure in Swedish nursing women. *Environ Int.* 43C:21-28.
- Han XD, Tu ZG, Gong Y, Shen SN, Wang XY, Kang LN, Hou YY, Chen JX. (2004) *Reprod Toxicol.* 2004 Dec;19(2):215-21.
- Hao CJ, Cheng XJ, Xia HF, Ma X. (2012) The Endocrine Disruptor 4-Nonylphenol Promotes Adipocyte Differentiation and Induces Obesity in Mice. *Cell Physiol Biochem.* 30(2):382-394.
- Hernández-Rodríguez G, Zumbado M, Luzardo OP, Monterde JG, Blanco A, Boada LD. (2007) Multigenerational study of the hepatic effects exerted by the consumption of nonylphenol- and 4-octylphenol-contaminated drinking water in Sprague-Dawley rats. *Environ Toxicol Pharmacol.* 23(1):73-81.
- Hossaini A, Dalgaard M, Vinggaard AM, Frandsen H, Larsen JJ. (2001) In utero reproductive study in rats exposed to nonylphenol. *Reprod Toxicol.* 15(5):537-43.
- Huang F.Y, Wang P.W, Huang L.W, Yang W, Yu C.J, Yang S.H, Chiu H.H, Chen M.L. (2014). n Nonylphenol in pregnant women and their matching fetuses: Placental transfer and potential risks of infants. *Environmental Research.* 134:143–148.
- Inaguma S, Takahashi S, Imaida K, Suzuki S, Shirai T. (2004) p-Nonylphenol pretreatment during the late neonatal period has no effect on 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl-induced prostate carcinogenesis in male F344 rats. *Cancer Lett.* 30;212(2):159-66.
- INRS (2006) Fiche toxicologique N° 249 . Nonylphenol et 4-nonylphenol ramifié. (INRS, Paris)
- Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM) (2011) Reproduction et environnement. Expertise collective INSERM. (INSERM, Paris)

- de Jager C, Bornman MS, Oosthuizen JM. (1999a) The effect of p-nonylphenol on the fertility potential of male rats after gestational, lactational and direct exposure. *Andrologia*. 31(2):107-13.
- de Jager C, Bornman MS, van der Horst G. (1999b) The effect of p-nonylphenol, an environmental toxicant with oestrogenic properties, on fertility potential in adult male rats. *Andrologia*. 31(2):99-106.
- Jie X, Yang W, Jie Y, Hashim JH, Liu XY, Fan QY, Yan L. (2010) Toxic effect of gestational exposure to nonylphenol on F1 male rats. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*. 89(5):418-28.
- Jing X, Bing S, Xiaoyan W, Xiaojie S, Yongning W. (2011) A study on bisphenol A, nonylphenol, and octylphenol in human urine amples detected by SPE-UPLC-MS. *Biomed Environ Sci*. 24(1):40-6.
- Kang KS, Kim HS, Ryu DY, Che JH, Lee YS. (2000) Immature uterotrophic assay is more sensitive than ovariectomized uterotrophic assay for the detection of estrogenicity of p-nonylphenol in Sprague-Dawley rats. *Toxicol Lett*. 118(1-2):109-15.
- Kim HS, Shin JH, Moon HJ, Kang IH, Kim TS, Kim IY, Seok JH, Pyo MY, Han SY. (2002) Comparative estrogenic effects of p-nonylphenol by 3-day uterotrophic assay and female pubertal onset assay. *Reprod Toxicol*. 16(3):259-68.
- Kim SK, Kim BK, Shim JH, Gil JE, Yoon YD, Kim JH. (2006) Nonylphenol and octylphenol-induced apoptosis in human embryonic stem cells is related to Fas-Fas ligand pathway. *Toxicol Sci*. 94(2):310-21.
- Kimura N, Kimura T, Suzuki M, Totsukawa K. (2006) Effect of gestational exposure to nonylphenol on the development and fertility of mouse offspring. *J Reprod Dev*. 52(6):789-95.
- Korkmaz A, Aydoğan M, Kolankaya D, Barlas N. (2011) Vitamin C coadministration augments bisphenol A, nonylphenol, and octylphenol induced oxidative damage on kidney of rats. *Environ Toxicol*. 26(4):325-37. doi: 10.1002/tox.20556.
- Kuklenyik Z, Ekong J, Cutchins CD, Needham LL, Calafat AM. (2003) Simultaneous measurement of urinary bisphenol A and alkylphenols by automated solid-phase extractive derivatization gas chromatography/mass spectrometry. *Anal Chem*. 75(24):6820-5.
- Kuo CC, Kuo DH, Huang CJ, Fang YC, Shieh P, Chen FA, Shaw CF, Jan CR. (2011) Nonylphenol-Induced Apoptotic Pathways in SCM1 Human Gastric Cancer Cells. *Drug Development Research*. 71 : 139–148.
- Kwack SJ, Kwon O, Kim HS, Kim SS, Kim SH, Sohn KH, Lee RD, Park CH, Jeung EB, An BS, Park KL. (2002) Comparative evaluation of alkylphenolic compounds on estrogenic activity in vitro and in vivo. *J Toxicol Environ Health A*. 65(5-6):419-31.
- Kyselova V, Peknicova J, Buckiova D, Boubelik M. (2003) Effects of p-nonylphenol and resveratrol on body and organ weight and in vivo fertility of outbred CD-1 mice. *Reprod Biol Endocrinol*. 1:30.
- Latendresse JR, Newbold RR, Weis CC, Delclos KB. (2001) Polycystic kidney disease induced in F(1) Sprague-Dawley rats fed para-nonylphenol in a soy-free, casein-containing diet. *Toxicol Sci*. 62(1):140-7.
- Laurenzana EM, Balasubramanian G, Weis C, Blaydes B, Newbold RR, Delclos KB. (2002) Effect of nonylphenol on serum testosterone levels and testicular steroidogenic enzyme activity in neonatal, pubertal, and adult rats. *Chem Biol Interact*. 139(1):23-41.
- Laws SC, Carey SA, Ferrell JM, Bodman GJ, Cooper RL. (2000) Estrogenic activity of octylphenol, nonylphenol, bisphenol A and methoxychlor in rats. *Toxicol Sci*. 54(1):154-67.
- Lee HJ, Chattopadhyay S, Gong EY, Ahn RS, Lee K. (2003) Antiandrogenic effects of bisphenol A and nonylphenol on the function of androgen receptor. *Toxicol Sci*. 75(1):40-6.
- Lee HK, Kim TS, Kim CY, Kang IH, Kim MG, Kyung Jung K, Kim HS, Han SY, Yoon HJ, Rhee GS. (2012) Evaluation of in vitro screening system for estrogenicity: comparison of stably transfected human estrogen receptor- α transcriptional activation (OECD TG455) assay and estrogen receptor (ER) binding assay. *J Toxicol Sci*. 37(2):431-7.

- Li X, Ying GG, Zhao JL, Chen ZF, Lai HJ, Su HC. (2013) 4-Nonylphenol, bisphenol-A and triclosan levels in human urine of children and students in China, and the effects of drinking these bottled materials on the levels. *Environ Int.* 52:81-6.
- Li Z, Zhang H, Gibson M, Li J. (2012) An evaluation on combination effects of phenolic endocrine disruptors by estrogen receptor binding assay. *Toxicol In Vitro.* 26(6):769-74.
- Liao C, Kannan K. Survey of Alkylphenols, Bisphenols, and Triclosan in Personal Care Products from China and the United States. *Arch Environ Contam A. Toxicol.* 2014 Mar 18.
- Lin L, Zheng LX, Gu YP, Wang JY, Zhang YH, Song WM. (2008) Levels of environmental endocrine disruptors in umbilical cord blood and maternal blood of low-birth-weight infants. Article en chinois. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.* 42(3):177-80.
- Lin W-C, Wang -L, Cheng C-Y, Ding W-H. (2009) Determination of alkylphenol residues in breast and commercial milk by solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Food Chemistry.* 114(2):753–757.
- Lopez-Espinosa MJ, Freire C, Arrebola JP, Navea N, Taoufiki J, Fernandez MF, Ballesteros O, Prada R, Olea N. (2009) Nonylphenol and octylphenol in adipose tissue of women in Southern Spain. *Chemosphere.* 76(6):847-52.
- Mao Z, Zheng YL, Zhang YQ. (2011) Behavioral impairment and oxidative damage induced by chronic application of nonylphenol. *Int J Mol Sci.* 12(1):114-27.
- Maras M, Vanparys C, Muylle F, Robbens J, Berger U, Barber JL, Blust R, De Coen W. (2006) Estrogen-like properties of fluorotelomer alcohols as revealed by mcf-7 breast cancer cell proliferation. *Environ Health Perspect.* 114(1):100-5.
- McClusky LM, de Jager C, Bornman MS. (2007) Stage-related increase in the proportion of apoptotic germ cells and altered frequencies of stages in the spermatogenic cycle following gestational, lactational, and direct exposure of male rats to p-nonylphenol. *Toxicol Sci.* 95(1):249-56.
- Mehranjani MS, Noorafshan A, Momeni HR, Abnosi MH, Mahmoodi M, Anvari M, Hoseini SM. (2009) Stereological study of the effects of vitamin E on testis structure in rats treated with para-nonylphenol. *Asian J Androl.* 11(4):508-16.
- Moody RP, Yip A, Chu I. (2009) Effect of cold storage on in vitro human skin absorption of six ¹⁴C-radiolabeled environmental contaminants: benzo[a]pyrene, ethylene glycol, methyl parathion, naphthalene, nonyl phenol, and toluene. *J Toxicol Environ Health A.* 72(8):505-17.
- Moody RP, Joncas J, Richardson M, Petrovic S, Chu I. (2010) Contaminated soils (III): in vitro dermal absorption of ethylene glycol and nonylphenol in human skin. *J Toxicol Environ Health A.* 73(15):1021-31.
- Moon HJ, Han SY, Shin JH, Kang IH, Kim TS, Hong JH, Kim SH, Fenton SE. (2007) Gestational exposure to nonylphenol causes precocious mammary gland development in female rat offspring, *Journal of reproduction and development*, 53(2):333-44
- Müller S, Schmid P, Schlatter C. (1998) Pharmacokinetic behavior of 4-nonylphenol in humans. *Environ Toxicol Pharmacol.* 5(4):257-65.
- Nagao T, Wada K, Marumo H, Yoshimura S, Ono H. (2001) Reproductive effects of nonylphenol in rats after gavage administration: a two-generation study, *Reproductive Toxicol*, 15(3):293-315.
- Negishi T, Kawasaki K, Suzaki S, Maeda H, Ishii Y, Kyuwa S, Kuroda Y, Yoshikawa Y. (2004) Behavioral alterations in response to fear-provoking stimuli and tranylcypromine induced by perinatal exposure to bisphenol A and nonylphenol in male rats. *Environ Health Perspect.* 112(11):1159-64.
- National Toxicological Program (1997) Nonylphenol : multigenerational reproductive effect in Sprague-Dawley rats when exposed to nonylphenol in the diet, 1997, R.O.W. Sciences study N° 8989-30. In

- European Assessment Report on Existing Substances (2002): 4-nonylphenol (branched) and nonylphenol, EUR 20387 EN, Series : 2nd Priority List vol. 10.
- Odum J, Pyrah IT, Foster JR, Van Miller JP, Joiner RL, Ashby J. (1999) Comparative activities of p-nonylphenol and diethylstilbestrol in noble rat mammary gland and uterotrophic assays. *Regul Toxicol Pharmacol.* 29(2 Pt 1):184-95.
- Olsen CM, Meussen-Elholm ET, Hongslo JK, Stenersen J, Tollefsen KE. (2005) Estrogenic effects of environmental chemicals: an interspecies comparison. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 141(3):267-74.
- Otaka H, Yasuhara A, Morita M. (2003) Determination of bisphenol A and 4-nonylphenol in human milk using alkaline digestion and cleanup by solid-phase extraction. *Anal Sci.* 19(12):1663-6.
- Peters (2005) Man-made chemicals in maternal and cord blood. TNO-report. TNO built Environment and Geosciences. March 2005.
- Ponzo O.J. Carbone S. Evidence of reproductive disruption associated with neuroendocrine changes induced by UV-B filters, phthalates and nonylphenol during sexual maturation in rats of both gender. *Toxicology* (in press, 2013).
- Pirard C, Sagot C, Deville M, Dubois N, Charlier C. (2012). Urinary levels of bisphenol A, triclosan and 4-nonylphenol in a general Belgian population. *Environment International* 48:78–83.
- Preuss TG, Gehrhardt J, Schirmer K, Coors A, Rubach M, Russ A, Jones PD, Giesy JP, Ratte HT. (2006) Nonylphenol isomers differ in estrogenic activity. *Environ Sci Technol.* 40(16):5147-53.
- Preuss TG, Gurer-Orhan H, Meerman J, Ratte HT. (2010). Some nonylphenol isomers show antiestrogenic potency in the MVLN cell assay. *Toxicol In Vitro.* 24(1):129-34.
- Qi Y, Zhang Y, Liu Y, Zhang W. (2011) Nonylphenol decreases viability and arrests cell cycle via reactive oxygen species in Raji cells. *Exp Toxicol Pathol.*
- Qiu YL, Wu DS, Zeng XG, Zhang H. (2005) Adverse effects of nonylphenol on the reproductive development of F1 male SD rats in sexual maturation period. Article en chinois. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 36(3):382-5.
- Santé Canada (2001) Le nonylphénol et ses dérivés éthoxylés. Liste des substances d'intérêt prioritaire. Rapport d'évaluation. Mars 2001
- Schmutzler C, Hamann I, Hofmann PJ, Kovacs G, Stemmler L, Mentrup B, Schomburg L, Ambrugger P, Grütters A, Seidlova-Wuttke D, Jarry H, Wuttke W, Köhrle J. (2004) Endocrine active compounds affect thyrotropin and thyroid hormone levels in serum as well as endpoints of thyroid hormone action in liver, heart and kidney. *Toxicology.* 205(1-2):95-102.
- Seike N, Wanibuchi H, Morimura K, Wei M, Nishikawa T, Hirata K, Yoshikawa J, Fukushima S. (2003) Enhancement of lung carcinogenesis by nonylphenol and genistein in a F344 rat multiorgan carcinogenesis model. *Cancer Lett.* 192(1):25-36.
- Shao ZX, Jiang HT, Liang F, Zhu BC. (2011) Effects of nonylphenol and cadmium on sperm acrosome reaction in vitro in mice. Article en chinois. *Zhonghua Nan Ke Xue.* 17(4):318-21.
- Sohoni P, Sumpster JP. (1998) Several environmental oestrogens are also anti-androgens. *J Endocrinol.* 158(3):327-39.
- Suen J.L, Hung C.H, Yu H. S, Huang S.K. Alkylphenols potential modulators of the allergic response. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences* (2012) 28, S43eS48.
- Tan BL, Ali Mohd M. (2003) Analysis of selected pesticides and alkylphenols in human cord blood by gas chromatograph-mass spectrometer. *Talanta.* 61(3):385-91.

- Tanaka T, Kohno H, Tanino M, Yanaida Y. (2002) Inhibitory effects of estrogenic compounds, 4-nonylphenol and genistein, on 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced ovarian carcinogenesis in rats. *Ecotoxicol Environ Saf.* 52(1):38-45.
- Tyl RW, Myers CB, Marr MC, Castillo NP, Seely JC, Sloan CS, Veselica MM, Joiner RL, Van Miller JP, Simon GS. (2006) Three-generation evaluation of dietary para-nonylphenol in CD (Sprague-Dawley) rats. *Toxicol Sci.* 92(1):295-310.
- Uchiyama T, Makino M, Saito H, Katase T, Fujimoto Y. (2008) Syntheses and estrogenic activity of 4-nonylphenol isomers. *Chemosphere.* 73(1 Suppl):S60-5.
- Uguz C, Varisli O, Agca C, Agca Y. (2009) Effects of nonylphenol on motility and subcellular elements of epididymal rat sperm. *Reprod Toxicol.* 2009 Dec;28(4):542-9.
- Van den Belt K, Berckmans P, Vangenechten C, Verheyen R, Witters H. (2004) Comparative study on the in vitro/in vivo estrogenic potencies of 17beta-estradiol, estrone, 17alpha-ethynylestradiol and nonylphenol. *Aquat Toxicol.* 66(2):183-95.
- Villanueva H, Gray SL, Baldwin WS. (2005) The contribution of hepatic steroid metabolism to serum estradiol and estriol concentrations in nonylphenol treated MMTVneu mice and its potential effects on breast cancer incidence and latency. *J Appl Toxicol.* 25(5):339-53.
- Woo GH, Shibutani M, Ichiki T, Hamamura M, Lee KY, Inoue K, Hirose M. (2007) A repeated 28-day oral dose toxicity study of nonylphenol in rats, based on the 'Enhanced OECD Test Guideline 407' for screening of endocrine-disrupting chemicals. *Arch Toxicol.* 81(2):77-88.
- Wu JJ, Wang KL, Wang SW, Hwang GS, Mao IF, Chen ML, Wang PS. (2010) Differential effects of nonylphenol on testosterone secretion in rat Leydig cells. *Toxicology.* 2010 268(1-2):1-7.
- Xu J, Wang Y, Yu J, Lu N, Fan QY, Li Y, Zhang RY. (2010) Effects of nonylphenol exposure via placenta on early nervous reflex and locomotives of offspring in rat. Article en chinois. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi.* 28(4):272-4.
- Xi Y, Li D, San W. (2013) Exposure to the endocrine disruptor nonylphenol alters structure and function of thyroid gland in rats. *Regulatory Peptides.* (185):52–56.
- Yamasaki K, Takeyoshi M, Sawaki M, Imatanaka N, Shinoda K, Takatsuki M. (2003) Immature rat uterotrophic assay of 18 chemicals and Hershberger assay of 30 chemicals. *Toxicology.* 183(1-3):93-115.
- Yao G, Hu Y, Liang J, Hou Y. (2005) Nonylphenol-induced thymocyte apoptosis is related to Fas/FasL pathway. *Life Sci.* 2005 Nov 12;77(26):3306-20.
- Yao G, Yang L, Hu Y, Liang J, Liang J, Hou Y. (2006) *Mol Immunol.* 43(7):915-26.
- Yao G, Ling L, Luan J, Ye D, Zhu P. (2007) Nonylphenol induces apoptosis of Jurkat cells by a caspase-8 dependent mechanism. *Int Immunopharmacol.* 7(4):444-53.
- Yen CH, Lin KC, Leu S, Sun CK, Chang LT, Chai HT, Chung SY, Chang HW, Ko SF, Chen YT, Yip HK. (2012) Chronic exposure to environmental contaminant nonylphenol exacerbates adenine-induced chronic renal insufficiency: Role of signaling pathways and therapeutic impact of rosuvastatin. *Eur J Pharm Sci.* 46(5):455-67.
- Zalko D, Costagliola R, Dorio C, Rathahao E, Cravedi JP. (2003) In vivo metabolic fate of the xeno-estrogen 4-n-nonylphenol in Wistar rats. *Drug Metab Dispos.* 31(2):168-78.
- Zhang H, Zeng X, Cheng W, Wu D. (2003) Adverse effects of nonylphenol on the reproductive function of adult male SD rats. Article en chinois. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 34(2):295-7. Chinese.
- Zhang H, Long DM, Zhan L, Wu DS. (2006). Effects of nonylphenol on testis tissue development and apoptosis of F1 generation male SD rats in weaning. Article en chinois. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 37(3):421-3.

Zhang W, Yang J, Wang J, Xia P, Xu Y, Jia H, Chen Y. (2007) Comparative studies on the increase of uterine weight and related mechanisms of cadmium and p-nonylphenol. *Toxicology*. 241(1-2):84-91.

Zhang HY, Xue WY, Li YY, Ma Y, Zhu YS, Huo WQ, Xu B, Xia W, Xu SQ. (2014). Perinatal exposure to 4-nonylphenol affects adipogenesis in first and second generation rats offspring. *Toxicol Lett.* 3 ; 225(2):325-32.

ANNEXES

Annexe 1: Bases de données consultées lors de l'élaboration de cette synthèse

Mots clefs utilisés :

4-nonylphénol, CAS N° 104-40-5

Date de dernière recherche : décembre 2011

Bases de données consultées :

- TOXNET
- ChemIDplus
- Toxline
- INCHEM :
- European Chemicals Bureau: EURAR /ESIS
- Fiches du CSST (français) : www.reptox.csst.qc.ca/
- OCDE-SIDS initial assessment profile :
<http://www.chem.unep.ch/irptc/sids/OECDSIDS/sidspub.html> et
<http://webnet3.oecd.org/echemportal/et>
- EPA
- IARC
- NTP
- DART
- CDC Chemical Emergency Response and
- ATSDR Agency for toxic substances and diseases registry.
- CDC - Chemical Emergency Response, Immediately Dangerous to Life or Health Concentrations (IDLH) and Criteria documents
- CCHST Canadian Center for Occupational Health and Safety
<http://ccinfoweb.cchst.ca/> (French);
- INRS Institut national de recherche et de sécurité. Fiches toxicologiques
- NICNAS Australian government - National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme, chemical assessment reports
- PUBMED
- NIEHS http://ntp-apps.niehs.nih.gov/ntp_tox/index.cfm
- Toxicity Profiles of the American Risk Assessment Information System (RAIS) - Programme d'évaluation des substances d'intérêt prioritaire de Santé Canada : _
- Chemfinder
- EPA - Integrated Risk Information System (IRIS) Toxicological reviews
- ATSDR Agency for toxic substances and diseases registry. Toxicological Profiles
- OEHHA
- Santé Canada
- RIVM
- JECFA (ADI/ TDI)
- OMS
- FURETOX.
- TERA-ITER (International Toxicity Estimates for Risk Assessment).
- JMPR (Joint Meeting on Pesticides Residues
- EPA Pesticide reregistration status (fact sheets)

- AGRITOX (AFSSA, DIVE)
- SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety).

Annexe 2 : Bilan des nouvelles études retenues pour la mise à jour du profil toxicologique du 4-NP*Revue*

Trente nouvelles publications ont été considérées dans la mise à jour du profil toxicologique du 4-nonylphénol (4NP).

Publications retenues pour la mise à jour du profil toxicologique du 4-NP*Revue*

- Ponzo et al 2013 Revue : Preuve de la perturbation de la fonction reproductrice associée à des changements endocriniens par les filtres UV-B, les phtalates et le nonylphénol au cours e la maturation sexuelle chez les rats des deux gendres.
- Suen et al 2014 Alkylphénols, modulateurs potentiels de la réponse allergique

Concentrations 4-n-NP dans les produits

- Liao et al 2014 Alkylphenols, bisphenols and triclosan dans les produits de soin corporel provenant de Chine et des USA

Biomonitoring

- Pirard et al 2012 Concentrations urinaires en BPA, triclosan et 4-NP dans la population générale Belge
- Geens et al. 2014 Distribution du bisphénol A et du n-nonylphénol dans le tissu adipeux, le foie et le cerveau humains.
- Huang et al. 2014 Nonylphénol chez les femmes enceintes et leur fœtus : Transfert placentaire et risks potentiels pour les nourrissons.

Etudes in vitro

- Paul et al 2013 L'analyse interspécifique de l'inhibition de la thyroperoxydase montre une conservation de la réponse entre le rat et le cochon
- Xie et al 2013 Fixation des perturbateurs endocriniens 4-NP et 4-TOP sur la sérum albumine humaine
- Dong et al 2014 Effets du bisphénol A et du 4-NP sur la réponse cellulaire évoquée par les récepteur LPA dans les cellules épithéliales hépatiques WB-F344
- Liu et al 2014 Le nonylphénol régule l'expression de la cyclooxygénase-2 dans les cellules de Sertoli TM4
- Liu et al 2014 Effet du 4-NP sur l'expression des récepteurs et la fonction sécrétrice des cellules de Sertoli TM4
- Hu et al 2014 Effets antagonistes du mélange 4NP et DBP à faible dose sur les cellules de Sertoli en culture primaire et sur les hormones de la reproduction chez les rats pré-pubères in vivo in vitro
- Nishimura et al. 2014 L'exposition à long terme des fibroblastes 3T3 aux perturbateurs endocriniens altère la sensibilité à un stress oxydant.

Epidémiologie

- Choi et al 2012 Association entre quelques perturbateurs endocriniens dans des échantillons biologique et les hypospadias.
- Chang et al 2013 Le niveau d'exposition maternel (urinaire) au nonylphénol est associé à un risque accru de faible poids corporel néonatal. Période critique durant le second semestre (détection par fluorescence) : Cohorte longitudinale Taiwan.

- Tsai et al 2014 Les résultats à la naissance chez les individus soumis à une exposition intra-utérine au nonylphénol – Etude longitudinale de cohorte à Taiwan.
- Tang et al 2013 Associations d'une exposition prénatale aux phénols avec les résultats à la naissance (durée de gestation, poids et taille à la naissance) (4NP total, libre, glucuronide et sulfate : UPLC MS/MS)
- Shen et al 2014 BPA, Mesure des estrogènes phénoliques environnementaux chez les femmes atteintes de Léiomyome utérin
- Zhou et al 2013 Mesure des estrogènes phénoliques environnementaux dans l'urine humaine par HPLC-MS/MS et discussion primaire sur un lien possible avec le léiomyome utérin
- Yum et al 2014 Association entre la puberté précoce et quelques perturbateurs endocriniens dans le plasma humain.
- Yi et al 2013 Association entre les phénols perturbateurs endocriniens dans le colostrum et la santé maternelle et du nourrisson.

Extrapolation in vitro → in vivo

- Punt et al 2012 Effet de la combinaison des données d'estrogénicité et des caractéristiques cinétiques des substances estrogéniques sur la valeur prédictive in vivo

Etude ex vivo

- Wang et al 2013 4-NP perturbe l'effet cardio-protecteur du 17- β -estradiol sur les dommages induits par l'ischémie chez le cœur isolé de cochon d'inde.

Etudes in vivo

- Chang et al. 2012 Une exposition in utero et néonatale au nonylphenol induit un hyperadrénalisme et un syndrome métabolique tard dans la vie. Première génération de rats (F1).
- Hao et al. 2012 Le perturbateur endocrinien 4-nonylphénol induit la différenciation des adipocytes et l'obésité chez la souris.
- Couderc 2014 Effets neuro-développementaux et comportementaux d'une exposition au nonylphenol durant la gestation et la période de lactation chez les rat F1.
- Chang et al. 2014 La récupération d'une exposition environnementale au nonylphénol est possible chez les rats femelles
- Hu et al 2014 Effets antagonistes du mélange 4NP et DBP à faible dose sur les cellules de Sertoli en culture primaire et sur les hormones de la reproduction chez les rats pré-pubères in vivo in vitro
- Sadakane et al 2013 Les alkyles phénols 4-NP et 4-Tert-octylphénol aggravent les dermatites atopiques induites par des allergènes
- Xi et al 2013 Nonylphénol altère la structure et l'activité sécrétrice de la glande thyroïde chez le rat.
- Zhang et al 2014 L'exposition périnatale au 4-nonylphénol affects l'adipogenèse chez les individus des première et seconde générations de rats.

Annexe 3: Tableau comparatif des études de Moon *et al.*, 2007 et de Chapin *et al.*, 1999

Référence	Chapin <i>et al.</i> , 1999	Moon <i>et al.</i> , 2007
Type d'étude	Etude sur la reproduction sur 3 générations	Etude de toxicité prénatale par gavage sur le développement de la glande mammaire
Substances chimiques, pureté, composition	Nonylphénol ramifié (n°CAS 84852-15-3) provenant de Schnectady International	Nonylphénol (mélange de composés branchés dont 85% d'isomère p), provenant de Kluka Chemical Atrazine (pureté = 97,1%) provenant de Novartis Crop Protection
Voie d'exposition	Voie orale (nourriture)	Voie orale (gavage)
Espèce - souche étudiée - âge - poids	Rats Crl-CD (Charles River) âgés de 11 semaines	Rates Long Evans gestantes, GD10
Conditions de vie	Quarantaine de 8 jours. Animaux en cage individuelle dans une pièce à 68-74 °F et 30-70% d'humidité. Cycle lumineux de 12h. Nourriture et eau <i>ad libitum</i> .	Animaux en cage individuelle dans une pièce maintenue à 20-24°C et 40-50% d'humidité. Cycle lumineux : 14h jour/ 10h nuit Nourriture et eau <i>ad libitum</i>
Sexe et nombre d'animaux par lot	30 couples par dose	7-8 rates gestantes par groupe de dose
Groupe témoin et nombre	30 couples par dose	7-8 rates gestantes par groupe de dose
Fréquence et durée de l'exposition	Exposition continue de la première dose au F0 jusqu'à l'autopsie des F3	GD15 – GD 19
Doses ou concentrations d'expositions	0, 15, 50 et 160 mg/kg pc/j (0, 200, 650 et 2000 ppm)	0 (huile de maïs), 10 et 100 mg/kg pc/j Atrazine : 100 mg/kg pc/j
Observations	Accouplement confirmé par lavage vaginal. Les femelles sont remises dans les cages des mâles 2 semaines après ou si présence d'un bouchon vaginale. <u>F0</u> Autopsie (après PND 21) : motilité du sperme, densité du sperme dans l'épididyme, poids corporel, poids foie, reins, rate, ovaires, vagin/col/utérus, épидидyme, testicule droit, prostate et vésicule séminale. TSHC (testicular spermatid head counts) Sur l'épididyme gauche et le testicule gauche : motilité, morphologie et TSHC	Délivrance = GD21, naissance PND0 PND 4 = toutes les portées sont mélangées puis reconstituées au hasard avec 10 rats/portées, avec au moins 6 femelles dans chaque. PND 22 (sevrage) = séparation des femelles et mises en cage par 3-4. <i>Observations quotidienne</i> : mortalité, morbidité, comportement, conditions générales, toxicité, poids corporel <i>Autopsie</i> : poids des ovaires, utérus, vagin et hypophyse des femelles (PND 41), dissection des utérus et ovaires

	<p>pour le groupe témoin et 160 mg/kg pc/j</p> <p><u>F1</u></p> <p>PND 1, 4, 7, 14 et 21 : Nbr de petits, poids ;</p> <p>PND 1 et 21 : distance anogénitale.</p> <p>Autopsie à PND 21 d'un mâle et une femelle par portée : poids foie, reins, rate, ovaires, vagin/col/utérus, épididyme et testicule droit.</p> <p>1 rat par sexe et par portée est sélectionné pour former un couple : évaluation journalière ouverture vaginale (à partir de PND 30), descente testiculaire (à partir de PND 16) et séparation préputiale (à partir PND 35).</p> <p>Les mêmes observations sont faites sur les générations suivantes.</p>	<p><i>Evaluation du développement des glandes mammaires</i> : critères morphologiques (PND 4, 22, 33, 41 et 66)</p> <p><i>Immuno-histochimie</i> : récepteurs des œstrogènes, de la progestérone et de la prolactine</p> <p><i>Radio-immuno-essai</i> : LH, FSH, TSH et prolactine sérique (à partir du sang collecté à l'autopsie)</p>
<p>Effets observés – toxicité générale / maternelle</p>	<p><u>F0</u></p> <p>Pas de lésions microscopiques sur l'épididyme gauche ou le testicule gauche</p> <p>Chez les mâles, dilatation tubulaire rénale à toutes les doses et ↗ poids relatif des reins à 50 et 160 mg/kg pc/j (PND 55-58)</p> <p>160 mg/kg pc/j : ↘ poids corporel chez les femelles</p> <p><u>F1</u></p> <p>Dilatation tubulaire rénale chez les mâles à toutes les doses et chez les femelles à 160 mg/kg pc/j</p> <p>50 mg/kg pc/j : ↘ poids corporel chez les femelles.</p> <p>160 mg/kg pc/j : ↘ poids corporel, ↗ poids relatif des reins (PND 55-58) chez les femelles et les mâles</p> <p><u>F2</u></p> <p>Dilatation tubulaire rénale chez les mâles à toutes les doses et chez les femelles aux 2 dernières doses</p> <p>50 mg/kg pc/j : ↘ poids corporel et ↗ poids relatifs des reins chez les mâles</p> <p>160 mg/kg pc/j : ↘ poids corporel et ↗ poids relatif des reins chez les mâles et les femelles, ↗ poids absolu du foie chez les femelles</p>	

	<p><u>F3</u> Dilatation tubulaire rénale chez les mâles et les femelles à toutes les doses</p> <p>50 mg/kg pc/j : ↘ poids corporel chez les femelles (PND 21) (pas observé à 160 mg/kg pc/j), ↘ poids corporel chez les femelles adultes</p> <p>160 mg/kg pc/j : ↘ poids corporel (males et femelles adultes)</p>	
<p style="text-align: center;">Effets reprotoxiques observés</p>	<p><u>F0</u> 160 mg/kg pc/j : ↘ du nombre de petits vivants par portée</p> <p><u>F1</u> 50 et 160 mg/kg pc/j : Ouverture vaginale précoce (PND 30), ↗ poids relatif du vagin et utérus (PND 21) 160 mg/kg pc/j : ↗ longueur du cycle œstral, séparation préputiale retardée, ↘ poids absolu des ovaires, de la prostate et du testicule droit (PND 55-58)</p> <p><u>F2</u> % de spermatozoïdes anormal augmenté à toutes les doses, ↗ longueur de la gestation à toutes les doses 15 mg/kg pc/j : Descente testiculaire précoce (pas observé à 650 ppm) 50 et 160 mg/kg pc/j : Ouverture vaginale précoce, ↘ poids absolu et relatif des ovaires, ↘ compte spermatique épидидymaire 50 mg/kg pc/j : ↘ index de fertilité 160 mg/kg pc/j : ↗ longueur du cycle œstral, descente testiculaire précoce, ↘ nombre de spermatides par mg testicule et ↘ têtes de spermatides par testicule</p> <p><u>F3</u> 50 mg/kg pc/j : Descente testiculaire retardée (pas observée à 160 mg/kg pc/j) 50 et 160 mg/kg pc/j : Ouverture vaginale précoce, ↘ poids absolu de l'épididyme droit 50 mg/kg pc/j : ↘ poids absolu des ovaires</p>	<p><u>Poids des organes (F1)</u> 100 mg/kg pc/j : ↑ poids utérin (PND 41)</p> <p><u>Effets sur le développement des glandes mammaires (F1)</u> 10 mg/kg pc/j : ↓ des branchements primaires du canal collecteur et retard de migration de l'épithélium vers les nœuds lymphatiques (PND 22) 100 mg/kg pc/j : migration de la glande mammaire du mamelon vers le nœud lymphatique (PND 4), ↑ du taux de branchements des canaux primaires en canaux secondaires (PND 4), ↑ du nombre de bourgeons alvéolaires et différenciation des bourgeons de l'extrémité terminale en bourgeons alvéolaires chez les femelles (PND 33)</p> <p><u>Effets sur les taux d'hormones (F1)</u> 10 mg/kg pc/j : ↓ TSH hypophysaire, ↑ du nombre de récepteurs de la progestérone dans l'épithélium des glandes mammaires et dans l'utérus 100 mg/kg pc/j : ↓ significative des niveaux de LH et FSH hypophysaire pendant la période de gestation (pas ↑ correspondante dans le sérum), ↑ du nombre de récepteurs de l'œstrogène dans le stroma et l'épithélium des glandes mammaires et dans l'utérus, ↘ du nombre de récepteurs de la progestérone, ↑ du nombre de récepteurs de la prolactine (dose non précisée mais 100 mg/kg selon fig 4)</p>

Effet critique pris en compte	Augmentation du cycle œstral, ouverture vaginale précoce, diminution du poids des ovaires, diminution du compte spermatique épидидymaire	Effets sur le développement des glandes mammaires
Couple NOAEL / LOAEL pour l'effet critique et incidence du LOAEL	NOAEL = 15 mg/kg pc/j (= 200 ppm) LOAEL = 50 mg/kg pc/j (= 650 ppm)	LOAEL = 10 mg/kg pc/j
Qualité de l'étude (cotation Klimisch)	1a (lignes directrices de l'OCDE et les bonnes pratiques de laboratoire)	2

Annexe 4: Tableau comparatif des études de Nagao *et al.*, 2001 et de Hossaini *et al.*, 2001

Référence	Hossaini <i>et al.</i> , 2001	Nagao <i>et al.</i> , 2001
Type d'étude	Etude de toxicité prénatale par gavage	Etude de la reproduction sur 2 générations
Substances chimiques, pureté, composition	n-Nonylphénol (n° CAS 104-40-5) Pureté de 99,5%	Nonylphénol (n° CAS 25154-52-3, mélange de composés avec une chaîne alkyle linéaire) provenant de Mitsui Chemical Co, Tokyo Pureté : au moins 99,0 %
Voie d'exposition	Voie orale (gavage) des mères -> exposition <i>in utero</i>	Voie orale (gavage)
Espèce - souche étudiée - âge - poids	Rats Wistar (mol: Wist/han) Femelles âgées de 12-14 semaines	Rats Crj: CD(SD)IGS Rats mâles âgés de 6 semaines (poids moyens des rats âgés de 5 semaines = 117,1 ± 2,7 g) Rats femelles âgés de 13 semaines (poids moyens des rats âgés de 10 semaines = 207,0 ± 5,3 g)
Conditions de vie	Animaux en cage individuelle dans une pièce à 22 ± 1°C et 55 ± 5 % d'humidité. Cycle lumineux de 12h. Nourriture semi-synthétique et eau <i>ad libitum</i> .	Animaux en cage dans une pièce maintenue à 23-25 °C et 50-65% d'humidité. Les femelles sont placées dans des cages individuelles une fois fécondées. Cycle lumineux de 12h. Nourriture et eau <i>ad libitum</i>
Sexe et nombre d'animaux par lot	?	25 rats de chaque sexe par groupe de dose
Groupe témoin et nombre	?	25 rats de chaque sexe par groupe de dose
Fréquence et durée de l'exposition	Exposition de GD11 - GD18	Exposition continue de la première dose administrée aux F0 jusqu'à l'autopsie des F2. F0 : Les mâles F0 sont exposés de 12 semaines avant la cohabitation (2 semaines) jusqu'à l'autopsie tandis que les femelles le sont de 2 semaines jusqu'à l'autopsie (gestation, délivrance et allaitement de 21 jours). F1 : après la période de sevrage (J22) jusqu'à leur autopsie F2 : jusqu'à l'autopsie
Doses ou concentrations d'expositions	0 (huile d'arachide), 3, 15 et 75 mg/kg pc/j Témoin positif : diéthylstilbestrol (30 µg/kg pc/j)	0 (huile de maïs), 2, 10 et 50 mg/kg pc/j
Observations	Après la délivrance = le nombre de ratons / portées est ajusté à 10 (tous les mâles sont gardés en vie) F0 Poids (toutes les semaines jusqu'à GD 14 puis tous les jours jusqu'à la délivrance, enfin toutes les semaines jusqu'au sevrage) F1	GD0 = jour où preuve de l'insémination (présence de sperme ou d'un « bouchon vaginal ») Naissance = PNDO F0 Observations des signes cliniques 1-2 fois par jour. Pesés 2 fois/semaines avant la cohabitation pour les 2 sexes et pour les femelles à GD0, 4, 7, 14 et 20 de la gestation et J0, 4, 7, 14 et 21 après la naissance.

Référence	Hossaini <i>et al.</i> , 2001	Nagao <i>et al.</i> , 2001
	<p>Distance ano-génitale et poids chez les mâles et les femelles (PND 1, 5, 10, 15 et 21)</p> <p>Analyse rLH et rFSH (PND 21 et 110), estradiol (PND 21, mâles) et progestérone (PND 110, mâles)</p> <p><i>Femelles</i> : Age de l'ouverture vaginale (examen à partir PND 28, 30, 32 et 34, puis tous les jours jusqu'à l'ouverture vaginale)</p> <p><i>Mâle</i> : Age de la séparation préputiale (examen tous les jours à partir de PND35). PND 110 : Analyse du sperme (motilité et nombre). PND 21 et 110 : ALAT, cholinestérase, créatinine, protéines totales, urée, glucose, cholestérol total, phosphate et LDH sanguin.</p> <p><u>F0 et F1</u></p> <p><i>Femelles</i> : autopsie (PND 21 pour les F0 et après l'ouverture vaginale pour les F1) : poids corporel, poids du foie, reins et surrénales.</p> <p><i>Mâle F1</i> : autopsie à PND 11, 21 ou 110 : poids du foie, chaque testicule et en plus pour les PND 110, poids surrénales, chaque épидидyme, vésicules séminales et prostate.</p>	<p>Mesure de la consommation de nourriture 2 fois/semaines avant la cohabitation pour les 2 sexes mais aussi à GD 1-2, 7-8, 13-14 et 19-20 et J3-4, 6-7 et 9-10 chez les femelles.</p> <p><i>Femelles</i> :</p> <p>Avant la cohabitation : frottis vaginal tous les matins</p> <p>Autopsie à J22.</p> <p>Pesées du cerveau, cœur, poumons, foie, rate, surrénales, thymus, ovaires, utérus, thyroïde et hypophyse chez 10 femelles dans les groupe de 50 mg/kg pc/j et les témoins (foie : aux doses de 2 et 10 mg/kg pc/j).</p> <p>Examen histologique (ovaires, trompes, utérus, vagin, cœur, foie, reins, vessie, rate, poumons, thymus, glandes mammaires, thyroïde, parathyroïde, hypophyse et surrénales) chez 10 femelles dans les groupe de 50 mg/kg pc/j et les témoins (foie : aux doses de 2 et 10 mg/kg pc/j).</p> <p><i>Mâles</i> :</p> <p>Autopsie à 23 semaines.</p> <p>Pesée du cerveau, cœur, poumon, foie, rate, reins, surrénales, thymus, testicules, épидидymes, prostate, vésicules séminales, thyroïde, hypophyse.</p> <p>Quantité de sperme dans épидидyme droit, mobilité spermatique</p> <p><u>F1</u></p> <p>Nombre de petits vivants à la naissance, viabilité (PND 0-4 et 4-21), anomalies à PND 0, distance anogénitale, poids corporel (PND 0, 4, 7, 14, 21 puis une fois par semaine jusqu'à âge de 13 semaines), développement réflexes neuro et physique (PND 4), maturation sexuelle (ouverture vaginale, séparation préputiale PND 4)</p> <p>LH, FSH, TSH, T3 et T4, testostérone, prolactine et 17 bêta estradiol</p> <p>Poids des testicules, épидидymes, vésicule séminale, prostate, ovaires, utérus</p> <p>Examen histopathologique</p> <p>Tests comportementaux et fonctionnels</p> <p><u>F2</u></p> <p>Autopsie à PND 21</p>
Tests statistiques utilisés	<p>Logiciel SAS 6,12</p> <p>Analyse de variance à un facteur : poids corporel, poids du foie, des reins et des surrénales, taille des portées, poids à la naissance</p> <p>Taille des portées utilisées comme covariance, puis test de Dunett</p> <p>Analyse de variance à un facteur ajusté sur taille des portées : distance ano-génitale, ouverture vaginale et séparation du</p>	<p>Test de Fisher pour les indices de fertilité et d'accouplement</p> <p>Test de Mann-Whitney pour les différences histologiques entre les 2 groupes, suivi par un test de Fisher pour le nombre de positifs</p> <p>Données issues des portées considérées comme un seul échantillon. Test de Barlett pour homogénéité des variances.</p> <p>Si Ok → analyse de variance puis si différence significative entre les groupes → test de Dunett</p>

Référence	Hossaini <i>et al.</i> , 2001	Nagao <i>et al.</i> , 2001
	préputiale, paramètres de motilité du sperme. Si significatif -> test de Dunett ($p < 0,05$) « Proc mixed » avec 2 facteurs principaux (âge et traitements) : poids corporel, niveaux hormonaux, poids du foie et des testicules. Si effets du traitement significatif -> two-tailed <i>t</i> test	(multiples comparaisons) Si non ou si variance = 0 → analyse des rangs Kruskal-Wallis, puis si significatif → test de Dunett (multiples comparaisons). Test de Student pour les concentrations sériques d'hormones Pour les tests, $p \leq 0,05$ et $p \leq 0,01$
Effets observés	<u>F1</u> 15 mg/kg pc/j : ↓ poids absolu du foie chez les mâles (PND 11 et 21) et ↓ poids absolu de l'épididyme droit mais pas du poids relatif (PND 110) 75 mg/kg pc/j : ↓ poids absolu du foie chez les mâles F1 (PND 21) mais pas chez les mâles adultes F1 (PND 110)	<u>F0</u> 2 mg/kg pc/j : <i>Mâles</i> : ↓ poids cerveau (poids relatif), ↑ poids cœur, thyroïde, surrénales et épididymes (poids absolu), ↓ T3 et T4 et ↑ testostérone <i>Femelles</i> : ↑ poids de l'utérus (relatif et absolu) 50 mg/kg pc/j : <i>Mâles</i> : ↑ poids cerveau, poumons, thyroïde, surrénales (poids relatif), ↓ poids du thymus, ↑ poids du foie (poids relatif) et reins (poids absolu et relatif) associé à des modifications histologiques (↑ hypertrophie centrolobulaire des hépatocytes, ↓ corps éosinophiles rénaux) et ↑ TSH <i>Femelles</i> : ↓ poids des ovaires (relatif et absolu) <u>F1 avant sevrage</u> 2 mg/kg pc/j : <i>Mâles</i> : ↑ poids relatif et absolu prostate et vésicule séminale (pas D/R) et ↓ TSH et T4 <i>Femelles</i> : ↓ TSH, T3 et T4 50 mg/kg pc/j : <i>Mâles</i> : ↑ FSH et ↓ T3 <i>Femelles</i> : ↓ LH et TSH, et ↑ T3 <u>F1 après sevrage</u> 2 mg/kg pc/j : <i>Mâles</i> : ↓ poids relatif thymus et ↓ FSH et T3 50 mg/kg pc/j : <i>Mâles</i> : ↑ poids relatifs foie et reins associé à des modifications histologiques au niveau du foie (↑ hypertrophie des hépatocytes centrolobulaires), ↓ T3 et ↑ concentration spermatique <i>Femelles</i> : ↓ poids corporel, ↓ poids relatif et absolu des ovaires, ↑ hypertrophie des hépatocytes centrolobulaires et ouverture vaginale précoce <u>F2</u> 50 mg/kg pc/j : ↓ nombre de sites d'implantation et du nombre des petits par portées
Effet critique pris en compte	↓ poids absolu de l'épididyme droit	Activité œstrogénique (ouverture vaginale précoce, ↓ LH et ↓ du poids des ovaires)
Couple NOAEL / LOAEL pour l'effet critique et	NOAEL = 3 mg/kg pc/j LOAEL = 15 mg/kg pc/j	NOAEL = 10 mg/kg pc/j LOAEL = 50 mg/kg pc/j

Référence	Hossaini <i>et al.</i> , 2001	Nagao <i>et al.</i> , 2001
incidence du LOAEL		
Toxicité maternelle	ND	non
Qualité de l'étude (cotation Klimisch)	1	1

Annexe 5 : Grille de lecture de l'étude de Zhang *et al.*, 2014.

Référence complète	Zhang HY et al. (2014) Perinatal exposure to 4-nonylphenol affects adipogenesis in first and second generation rats offspring. <i>Toxicol Lett</i> 255, 325-332
Type d'étude (1G, 2G, prénatale...)	Etude 2G : Exposition périnatale des F1
Objectif de l'étude	Etudier les effets du 4NP sur l'adipogenèse chez la descendance F1 et F2 de rats
Respect BPL – lignes directrices	Etude académique
Substances chimiques, pureté, composition	4-nonylphénol. Pureté, structure et origine non spécifiées dans l'article mais indiqué par l'auteur sur requête : 4NP provenant de Sigma, CAS 84852-15-3, pureté ≥99%. Il s'agit d'un mélange de 4NP linéaire et ramifié.
Espèce / souche étudiée / âge - poids	Rat Wistar
Sexe et nombre d'animaux par lot	Petits F1 : portées ajustées à 3 mâles et 3 femelles par mère Sacrifice de 8 mâles et 8 femelles F1 à PND21 (1-2 mâles/femelles par portées) Le reste des F1 nourris normalement jusqu'à PNW9. A PNW9, pour produire les F2, 8 femelles F1 contrôles ont été accouplées à 8 mâles F1 contrôles (groupe F2 contrôle), et 8 femelles exposées ont été accouplées à 8 mâles F1 contrôles (groupe F2 exposés). Les autres mâles individus ont été élevés jusqu'à PNW26 et sacrifiés pour analyse sanguine and du tissu adipeux. A PND2, 8 mâles et 8 femelles F2/groupe ont été sélectionnés et nourris normalement jusqu'à la fin de l'étude
Groupe témoin et nombre	Véhicule : Huile d'olive
Témoin positif	Aucun
Conditions de vie	<ul style="list-style-type: none"> - Cages en polypropylène - Bouteille en polypropylène - Alimentation sans phytoestrogènes - Alimentation 13.21% L, 27.18% P, 59.61 G (14.39 kJ/g kcal/g)
Voie d'exposition	Orale, par gavage
Fréquence et durée de l'exposition	Femelle F1 exposée de GD6-PND21
Doses / concentrations d'expositions	<ul style="list-style-type: none"> - 0 – 5 – 25 - 125 µg/kg/j - Oral, par gavage - Doses ajustées quotidiennement au poids des mères (vol 0.5 mL/kg)
Observations / paramètres étudiés	<ul style="list-style-type: none"> - Tissu adipeux épидidymal et utérin - Masse corporelle - Adiponectine, leptine, glycémie, acides gras libres et Triglycérides sériques
Facteurs de confusion (présence de phyto-œstrogènes dans le régime alimentaire, polycarbonate dans les cages d'hébergement, composition de l'eau de boisson, composition de la litière, etc.)	Co-exposition au BPA et aux phytoestrogènes contrôlée
Effets observés – toxicité générale / maternelle	Observations négatives <ul style="list-style-type: none"> - Pas d'effet sur les jours de gestation (gestation days) (durée de gestation) - Pas d'effet sur la taille des portées

- Pas d'effet sur le sex ratio
- Pas d'effet sur le poids à la naissance chez les F1
- Pas d'effet sur la prise alimentaire
- Pas d'effet sur la prise de poids des F0 suivie de G6 à PND0

Résidus de 4-NP sanguins

Chez les F1, les concentrations en 4-NP à PND21 étaient de 2.48 ± 0.32 ng/mL chez le groupe 25 µg/kg/j et 13.13 ± 1.27 ng/mL chez le groupe 125 µg/kg/j

Génération F1 (effet obésogène)

Mâles

- 5 µg/kg/j : Augmentation de la masse corporelle, de la proportion relative du tissu adipeux (de PNW12 à PNW26), de la leptine, de la glycémie
- 25 µg/kg/j : Augmentation de la masse corporelle, de la proportion relative du tissu adipeux, de la leptine, des TG, de la glycémie. Diminution de l'adiponectine. L'augmentation de masse corporelle n'est pas liée à une augmentation de poids des F0 suivi de GD6 à PND0 car il n'y a pas de différence significative avec les témoins.
- 125 µg/kg/j : Augmentation de la masse corporelle, de la proportion relative du tissu adipeux, de la leptine, des TG, de la glycémie. Diminution de l'adiponectine.
- Augmentation très significative («hypertrophie») et dose-dépendante du volume des adipocytes
- Augmentation dose-dépendante de l'expression des gènes codant pour des facteurs transcription proadipogènes Srebp1 (sterol regulatory element-binding protein 1), PPAR γ et de la fatty acid synthase (FAS).
- Augmentation de l'expression du gène codant pour la lipoprotéine lipase (rôle double, fournit les AG pour l'oxydation ou le stockage (note du lecteur)
- Diminution dose-dépendante de l'expression des gènes et des récepteurs ER α dans le tissu adipeux gonadique.
-

Femelles

- 5 µg/kg/j : Augmentation de la masse corporelle, de la proportion relative du tissu adipeux (de PNW12 à PNW26), de la leptine. Diminution de l'adiponectine.
- 25 µg/kg/j : Augmentation de la masse corporelle, de la proportion relative du tissu adipeux, de la leptine, des TG, de la glycémie. Diminution de l'adiponectine.
- 125 µg/kg/j : Augmentation de la masse corporelle, de la proportion relative du tissu adipeux, de la leptine, de la glycémie. Diminution de l'adiponectine.
- Augmentation très significative («hypertrophie») et dose-dépendante du volume des adipocytes à PNW13
- Augmentation dose-dépendante de l'expression des gènes codant pour des facteurs transcription proadipogènes Srebp1 (sterol regulatory element-binding protein 1), PPAR γ et de la fatty acid synthase (FAS).
- Augmentation de l'expression du gène codant pour la lipoprotéine lipase (rôle double, fournit les AG pour l'oxydation ou le stockage (note du lecteur)
- Diminution dose-dépendante de l'expression des gènes et des récepteurs ER α dans le tissu adipeux gonadique.

Génération F2

(effet obésogène, dose dépendant)

	<p>Mâles</p> <ul style="list-style-type: none"> - 5 µg/kg/j : Augmentation de la masse corporelle, de la proportion relative du tissu adipeux, de la leptine, de la glycémie. Diminution de l'adiponectine. - 25 µg/kg/j : Augmentation de la masse corporelle, de la proportion relative du tissu adipeux, de la leptine, des TG, de la glycémie. Diminution de l'adiponectine. - 125 µg/kg/j : Augmentation de la masse corporelle, de la proportion relative du tissu adipeux, de la leptine, des TG, de la glycémie. Diminution de l'adiponectine. - Augmentation très significative («hypertrophie») et dose-dépendante du volume des adipocytes - Augmentation dose-dépendante de l'expression des gènes codant pour des facteurs transcription proadipogènes Srebp1 (sterol regulatory element-binding protein 1), PPARγ et de la fatty acid synthase (FAS). - Augmentation de l'expression du gène codant pour la lipoprotéine lipase (rôle double, fournit les AG pour l'oxydation ou le stockage (note du lecteur)) - Diminution dose-dépendante de l'expression des gènes et des récepteurs ERα dans le tissus adipeux gonadique. <p>Femelles</p> <ul style="list-style-type: none"> - 5 µg/kg/j : Augmentation de la masse corporelle, de la leptine et de la glycémie. Diminution de l'adiponectine. - 25 µg/kg/j : Augmentation de la masse corporelle, de la proportion relative du tissu adipeux, de la leptine, des TG, de la glycémie. Diminution de l'adiponectine. - 125 µg/kg/j : Augmentation de la masse corporelle, de la proportion relative du tissu adipeux, de la leptine, des TG et de la glycémie. Diminution de l'adiponectine. - Augmentation très significative («hypertrophie») et dose-dépendante du volume des adipocytes - Augmentation dose-dépendante de l'expression des gènes codant pour des facteurs transcription proadipogènes Srebp1 (sterol regulatory element-binding protein 1), PPARγ et de la fatty acid synthase (FAS). - Augmentation de l'expression du gène codant pour la lipoprotéine lipase (rôle double, fournit les AG pour l'oxydation ou le stockage (note du lecteur)) - Diminution dose-dépendante de l'expression des gènes et des récepteurs ERα dans le tissus adipeux gonadique.
Effets observés – reprotoxicité	Sans objet
Effet critique pris en compte	Effet adipogènes/obésogène
Couple NOAEL / LOAEL pour l'effet critique	LOAEL = 5 µg/kg/j
Conclusions des auteurs	Une exposition périnatale au 4NP peut affecter l'adipogenèse à la fois chez les rats mâles et femelles F1 et cet effet peut se répercuter chez les F2 à travers la lignée maternelle. La perturbation de l'expression des ER α peut être impliquée dans le mécanisme d'action du 4NP
Qualité de l'étude (cotation Klimisch)	1d
Commentaires et conclusions du relecteur	Effet adipogène/obésogène dose-dépendant du 4NP

Notes



**Filières, usages et expositions liées à la présence de
substances PE et/ou R2 dans les produits de
consommation**

4-nonylphénol

(n° CAS : 104-40-5)

Saisine « n° 2009-SA-0331 »

**RAPPORT
d'expertise collective**

**Comité d'experts spécialisés
« Evaluation des risques liés aux substances chimiques »**

Groupe de travail

« Perturbateurs endocriniens et reprotoxiques de catégorie 3 »

Novembre 2015

Mots clés

4-nonylphénol, substances reprotoxiques, perturbateur endocrinien, produits de consommation, exposition.

Présentation des intervenants

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

GRUPE DE TRAVAIL « PERTURBATEURS ENDOCRINIENS ET REPROTOXIQUES DE CATEGORIE 3 »

Président

M. Claude EMOND – Université de Montréal, Canada

Vice-président

M. Luc Belzunces – Directeur de recherche – Laboratoire de Toxicologie Environnementale, UR 406 A&E, INRA

Membres

M. Jean-Philippe ANTIGNAC - Ingénieur analyste - ONIRIS, LABERCA

M. Brice APPENZELLER - Responsable de laboratoire de biomonitoring - Centre de Recherche

Public en Santé, Luxembourg

M. Mohammed BENHAMED - Médecin - endocrinologue - toxicologue - INSERM. *Démission le 16 février 2013*

M. Nicolas BERTRAND - Ingénieur - INRS

M. Olivier BLANCHARD - Expologue - EHESP

Mme Martine CLAUW - Toxicologue-vétérinaire - INPT/ENVT, Université de Toulouse

M. Jean-Pierre CRAVEDI - Directeur de Recherche - INRA

Mme Elisabeth ELEFANT - Médecin spécialisé en tératologie humaine - Centre de référence sur les Agents tératogènes - AP-HP hôpital Armand Trousseau, Paris

Mme Florence EUSTACHE - Médecin - CECOS, AP-HP, Hôpital Jean Verdier, Paris

Mme Véronique EZRATTY - EDF, Médecin de l'Institut Gustave Roussy (Villejuif) et d'un service de prévention et de dépistage des tumeurs de la ville de Paris

Mme Joëlle FEVOTTE - Chercheur - UMRESTTE UCB Lyon 1. *Démission le 16 octobre 2013.*

M. René HABERT - Professeur des universités - Université Paris Diderot

Mme. Brigitte LE MAGUERESSE-BATTISTONI - Directeur de Recherche - INSERM

M. Frédéric LEMARCHAND - Analyse sociologique - Université de Caen. *Démission le 22 janvier 2013*

Mme Laura MAXIM - Chargée de recherche - CNRS

Mme Corinne MANDIN - Ingénieur expologue - CSTB

M. Christophe MINIER - Ecotoxicologue - Université du Havre

M. Luc MULTIGNER - Médecin épidémiologiste - INSERM

M. Alexandre PERY - Responsable d'unité - INERIS

M. Wilfried SANCHEZ - Ecotoxicologue - INERIS

Mme Anne STEENHOUT - Exposition agrégée - Université libre de Bruxelles, Belgique

Mme Larissa TAKSER - Médecin épidémiologiste - Université de Sherbrooke, Canada

M. Patrick THONNEAU - Médecin - INSERM

Mme Catherine VIGUIE – Vétérinaire – Directrice de Recherche INRA

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

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

- CES « Evaluation des risques liés aux substances chimiques »

Président

M. Michel GUERBET – Professeur de toxicologie à l'UFR médecine pharmacie de Rouen - Pharmacien toxicologue

Vice-Président

Mme Béatrice LAUBY-SECRETAN – Docteur en toxicologie, Scientifique pour monographies du CIRC – groupe IMO, CIRC/ OMS

Membres

M. Luc BELZUNCES – Directeur de Recherche - Laboratoire de Toxicologie Environnementale, UR 406 A&E, INRA

M. Damien BOURGEOIS – Chargé de Recherche – Institut de Chimie Séparative de Marcoule - CNRS

Mme Corinne CASSIER-CHAUVAT – Directrice de Recherche DR2 CNRS – iBiTecS/SBIGeM/LBI, unité mixte CEA-CNRS URA 2096

Mme Anne CHEVALIER – épidémiologiste retraitée - InVS

M. Pascal EMPEREUR-BISSONNET - Médecin, responsable de l'unité « Populations, Risques, Territoires » - Département Santé Environnement, InVS

Mme Brigitte ENRIQUEZ – Enseignant chercheur (Pr) Pharmacie – toxicologie / Responsable de la pharmacie centrale – Unité de Pharmacie Toxicologie, ENVA

Mme Dominique GUENOT – Chargée de recherche - CNRS

M. Cong Khanh HUYNH – Docteur es Sciences - Ingénieur chimiste – Institut universitaire Roman de Santé au Travail

M. Kannan KRISHNAN – Professeur, enseignant chercheur - Santé publique et Toxicologie - Département de Santé environnementale et de santé au travail, Université de Montréal – démission décembre 2012

M. Dominique LAFON – Médecin toxicologue, pilote de la thématique reproduction et travail – INRS

Mme Dominique LAGADIC-GOSSMANN – Directrice de Recherche CNRS – EA 4427 SeRAIC / IRSET, Université Rennes 1

Mme Annie LAUDET - Pharmacien toxicologue retraitée – INRS

Mme Florence MÉNÉTRIER – Responsable de l'unité Prositon / Pharmacien – DSV/Prositon, CEA

M. Fabrice MICHIELS – Médecin du travail, toxicologue – Service de santé des armées

Mme Odette PRAT - Chercheur Biologiste Toxicologue / Responsable Toxicogénomique - Institut de Biologie Environnementale et de Biotechnologie / DSV/ CEA

M. Henri SCHROEDER – Enseignant chercheur / Pharmacien biologiste – URAFPA, INRA USC 340, Faculté des Sciences et Technologies, Nancy université

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Claire BEAUSOLEIL – Chef de projet scientifique - Anses

M. François POUZAUD – Chef de projet scientifique - Anses

Contribution scientifique

Mme Emmanuelle DURAND – Chargée de projet scientifique – Anses

Mme Carole LEROUX– Chargée de projet scientifique - Anses

Mme Céline DUBOIS - Chef de projet scientifique - Anses

M Stéphane LÉCONTE- Chargé de projet scientifique – Anses

Mme Audrey MALRAT DOMENGE - Chef de projet scientifique – Anses

Mme Valérie PERNELET-JOLY – Chef d'unité - Anses

M. Guillaume PÉROUEL – Chargé de projet scientifique – Anses

Mme Fatoumata SISSOKO – Chargée de projet scientifique – Anses

Mme Lauranne VERINES-JOIN – Chargée de projet scientifique – Anses

Mme Anita VIGOUROUX-VILARD– Chargée de projet scientifique – Anses

Secrétariat administratif

Mme Séverine BOIX-PETRE – Assistante – Anses

Mme Véronique QUESNEL– Assistante – Anses

SOMMAIRE

Présentation des intervenants.....	3
Sigles et abréviations	8
Liste des tableaux.....	10
1 Présentation de la substance.....	11
1.1 Identité de la substance	12
1.2 Propriétés physico-chimiques du 4-NP	13
1.3 Synthèse du 4-NP	13
2 Réglementation.....	14
2.1 Réglementation spécifique au 4-nonylphénol linéaire (n°CAS 104-40-5)	14
2.2 Réglementation applicable aux mélanges de nonylphénols (n°CAS : 25154-52-3) et au 4-nonylphénol ramifié (n°CAS : 84852-15-3).....	15
3 Résultats de l'enquête de filières.....	18
3.1 Production, distribution et importation du 4-NP	18
3.1.1 Informations issues de la bibliographie	18
3.1.2 Tonnages de la substance : résultats issus de l'enquête de filières	19
3.2 Identification des usages et des secteurs d'activités	20
3.2.1 Usages identifiés dans la bibliographie	24
3.2.1.1 Intermédiaire de synthèse des éthoxylates de nonylphénol	24
3.2.1.2 Intermédiaire de synthèse des résines phénol-formaldéhyde	26
3.2.1.3 Intermédiaire de synthèse des résines époxy	27
3.2.1.4 Intermédiaire de synthèse du Tris(nonylphényl)phosphite (TNPP)	27
3.2.1.5 Autres utilisations	27
3.2.2 Usages identifiés <i>via</i> les industriels.....	30
3.3 Contact auprès des fédérations	30
4 Résultats de l'extraction des bases de données	31
4.1 Extraction de la Base nationale des produits et compositions (BNPC).....	31
4.2 Extraction de la base de données Sepia.....	31
5 Synthèse des mélanges et articles identifiés	33
6 Identification de données d'exposition relatives aux environnements domestiques et/ou extérieurs.....	34
6.1 Données sur l'air intérieur des logements et l'air extérieur.....	34
6.1.1 Concentrations dans l'air intérieur de logements	36
6.1.2 Concentrations dans l'air extérieur	39
6.2 Données sur les poussières sédimentées	43
6.3 Discussion et choix des données d'exposition.....	48

7	Discussions et conclusions	49
8	Références bibliographiques	50
	ANNEXES.....	53

Sigles et abréviations

BNPC : Base nationale des produits et compositions
CAS : Chemical Abstract Service
CLP : Classification Labelling Packaging
COPACEL : Confédération française de fabricants de papiers, cartons et celluloses
COV : Composé organique volatil
CTC : Centre technique du cuir
CTIF : Centre technique des industries de la fonderie
CTP : Centre technique du papier
CTTN : Centre technique de la teinture et du nettoyage
ECHA : European CHemicals Agency - Agence européenne des produits chimiques
EINECS : European INventory of Existing commercial Chemical Substances
ERS : Evaluation des risques sanitaires
ESIS : European chemical Substances Information System
FDS : Fiche de données de sécurité
FT : Fiche toxicologique
GC-MS : Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
GC-FID : Chromatographie gazeuse couplée à un détecteur par ionisation de flamme
HPV : High Production Volume
HSDB : Hazardous Substances Data Base
INERIS : Institut national de l'environnement industriel et des risques
INRS : Institut national de recherche et de sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles
INSEE : Institut national de la statistique et des études économiques
INSERM : Institut national de la santé et de la recherche médicale
KEMI : Swedish chemicals agency - Agence suédoise des produits chimiques
Koc : Coefficient d'adsorption du sol
Kow : Coefficient de partage octanol-eau
LD : Limite de détection
LIE : Limite inférieure d'explosivité
LPV : Low Production Volume
LQ : Limite de quantification
LSE : Limite supérieure d'explosivité
MDL : Method Detection Limit – Limite de détection de la méthode
MRL : Method Reporting Limit – Limite de report de la méthode
NAF : Nomenclature des activités françaises
NP : Nonylphénol
NPEs : Ethoxylates de nonylphénols
OCDE : Organisation de coopération et de développement économiques
ONDEF : Organisation professionnelle des fabricants d'emballage en carton ondulé de France
OSPAR : OSlo and PARis Conventions for the protection of the marine environment of the North-East Atlantic

PE : Perturbateur endocrinien

PIC : Prior Inform Consent - Consentement informé préalable

PVC : Polychlorure de vinyl

REACH : Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals -
Enregistrement, évaluation, autorisation et restriction applicables aux substances chimiques

SGH : Système global harmonisé

TNPP : Tris(nonylphényl)phosphite

UE : Union européenne

Liste des tableaux

Tableau 1 : Identité de la substance	12
Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques du 4-NP	13
Tableau 3 : classification et étiquetage du nonylphénol (n°CAS : 25154-52-3) et du 4-NP ramifié (n°CAS : 84852-15-3) selon la directive 67/548/CEE et le règlement n°1272/2008	16
Tableau 4 : Volume de production, exportations et importations des nonylphénols en Europe en 1997	18
Tableau 5 : Quantités (en tonnes par an) de nonylphénols et d'éthoxylates de nonylphénols exportées hors de l'Union Européenne	18
Tableau 6 : Quantités annuelles de 4-NP mises en œuvre en France déclarées lors de l'enquête en ligne	19
Tableau 7 : Quantités de 4-NP fabriquées, importées ou distribuées en France déclarées lors de l'enquête en ligne.....	19
Tableau 8 : Comparaison des secteurs d'activités recensés dans la bibliographie et lors de l'enquête de filières.....	21
Tableau 9 : Principales utilisations des nonylphénols dans l'UE en 1994 et 1997	24
Tableau 10 : Synthèse des produits contenant du 4-NP à destination de la population générale et/ou professionnelle.....	31
Tableau 11 : Pourcentages et nombre de mélanges de la base Sepia contenant du 4-NP par intervalles de concentration	32
Tableau 12 : Synthèse des usages répertoriés.....	33
Tableau 13 : Concentrations en 4-NP relevées dans l'air intérieur.....	37
Tableau 14 : Concentrations en 4-NP relevées dans l'air extérieur.....	40
Tableau 15 : Concentrations en 4-NP dans les poussières.....	45

1 Présentation de la substance

Cette substance entre dans le champ de la saisine de par sa classification en tant que potentiel perturbateur endocrinien, en effet le 4-nonylphénol linéaire (4-NP) est étiqueté perturbateur endocrinien de catégorie 1 (PE 1) selon les données européennes du DHI (DHI, 2007).

Dans les conditions normales de température et de pression, le 4-NP est un produit stable qui se présente sous la forme d'un liquide jaune-pâle visqueux, modérément volatil et d'odeur légèrement phénolique (Ashford*, 2001 ; Kirk et Othmer*, 2007)¹.

L'Anses a été saisie par la Direction générale de la Santé en date du 9 juin 2009 afin de réaliser une évaluation des risques pour la santé du consommateur en contact avec une liste de substances dites perturbatrices endocriniennes ou reprotoxiques de catégorie 3. A cette date, la réglementation applicable en termes de classification et étiquetage des substances dangereuses était la directive européenne 67/548/CEE².

En 2008, le règlement CLP ³(règlement (CE) n°1272/2008 du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008 (JOUE L 353 du 31 décembre 2008)) a introduit dans l'Union européenne le nouveau système général harmonisé de classification et d'étiquetage ou SGH. La classification et l'étiquetage des substances, harmonisés selon les deux systèmes (règlement et directive 67/548/CEE) figurent dans l'annexe VI dudit règlement CLP et coexistent jusqu'en 2015. Le règlement CLP remplace la classification préexistante des substances CMR par une nouvelle classification. Ainsi les anciennes catégories 1,2 ou 3 pour les CMR de la directive 67/548/CEE sont remplacées par les catégories 1A, 1B ou 2.

De même, le terme « préparation » utilisé dans la directive 67/548/CEE est remplacé par le terme « mélange » dans le règlement CLP. Par conséquent la classification et les termes utilisés dans les différents documents, rapports, notes d'expertise collective et avis, sont ceux en vigueur dans le cadre du règlement CLP n° 1272/2008.

¹ Les références annotées du symbole « * » sont extraites d'une étude réalisée pour le compte de l'Anses et dans le cadre strict de la saisine par le prestataire extérieur Néodyme

² Directive Européenne 67/548/CEE du 27 juin 1967 du Conseil concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses

³ Classification, Labelling and Packaging

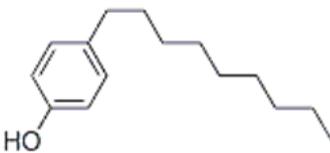
1.1 Identité de la substance

Le terme nonylphénol recouvre un grand nombre de molécules différentes de formule brute $C_{15}H_{24}O$. Présents sous forme de mélanges, ces isomères se distinguent par le type de ramification et la position du radical nonyl sur le noyau phénolique. La majorité des isomères employés sont des 4-nonylphénols. En fonction de la forme linéaire ou ramifiée de la chaîne alkyl et de leur présence sous forme de mélanges, leur identification par n° CAS est la suivante (INRS, 2006) :

- **CAS n°104-40-5** : Il s'agit d'une molécule unique, le 4-nonylphénol linéaire ou 4-nonylphénol (4-NP).
- **CAS n°84852-15-3** : Mélange de nonylphénols à chaînes ramifiées, toutes en position para, correspondant à la principale proportion des nonylphénols industriels, et désigné sous le terme de 4-nonylphénol ramifié. La composition de ces mélanges n'est pas définie de façon précise.
- **CAS n°25154-52-3** : Mélange d'isomères de position dont la chaîne alkylée est linéaire, incluant le 4-nonylphénol linéaire (104-40-5), désigné de façon générique sous le terme « nonylphénol ». La composition de ces mélanges n'est pas définie de façon précise.
- **CAS n°90481-04-2** : Mélange d'isomères de position dont la chaîne alkylée est ramifiée.

En termes de données sur leurs utilisations, il est souvent difficile de différencier les isomères entrant dans la composition des mélanges commerciaux. En l'absence d'informations spécifiques au 4-NP linéaire, la recherche bibliographique repose sur les utilisations des mélanges d'isomères, en particulier du mélange d'isomères à chaîne alkyl linéaire (CAS n°25154-52-3), désigné par soucis de clarté sous le terme générique « nonylphénol » (NP) et du 4-nonylphénol ramifié (CAS n°84852-15-3).

Tableau 1 : Identité de la substance

IDENTIFICATION DE LA SUBSTANCE	
Numéros CAS	104-40-5
Numéro CE (EINECS)	203-199-4
Nom	4- nonylphénol 4-NP
Synonymes	p-nonylphenol para-nonylphénol N-nonylphenol
Famille chimique	Alkylphénols
Formule brute	$C_{15}H_{24}O$
Formule développée	

1.2 Propriétés physico-chimiques du 4-nonylphénol

Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques du 4-nonylphénol

Paramètre	Valeur	Valeurs expérimentales ou modélisées	Sources ⁴
Forme physique (à T° ambiante)	Liquide jaune pâle visqueux	-	[1] [2]
Masse Molaire (g.mol ⁻¹)	220,34	Non précisé	[1] [2] [3]
Point d'ébullition (°C) (Préciser la pression)	293 à 324	Non précisé	[1] [3]
Point de fusion (°C)	42 à 44	Non précisé	[1] [3]
Point éclair (°C)	141 à 155°C	Données expérimentales	[4][5]
Limite inférieur d'explosivité (LIE)	Le nonylphénol n'a pas de limite d'explosivité dans les conditions standards de température et de pression, au regard de sa structure moléculaire	-	[5]
Limite supérieure d'explosivité (LSE)			
Pression de vapeur saturante (Pa)	0,11 à 25°C	Non précisé	[1] [2]
Concentration à saturation (mg.m ⁻³)	9,7 à 25°C	Calculée	Calculée à partir de [1] [2]
Densité vapeur (air = 1)	7,6 à 25°C	Non précisé	[4]
Densité liquide	0,937 à 25°C	Non précisé	[3]
Facteur de conversion à 25°C	1 ppm = 9 mg.m ⁻³	Non précisé	[4]
Solubilité dans l'eau	7 10 ⁻³ g.L ⁻¹ à 25°C	Non précisé	[1] [2]
Log Kow	5,76	Non précisé	[1] [2]
Koc (L.kg ⁻¹)	60890	Non précisé	[1]

Nota bene : Les références bibliographiques [1], [2] et [3] concernent spécifiquement le 4-NP linéaire. Les références [4] et [5] concernent les nonylphénols en général ou le 4-nonylphénol ramifié.

1.3 Synthèse du 4-nonylphénol

Le « nonylphénol » est le produit de la réaction du phénol avec un mélange de nonènes en présence d'un catalyseur (procédé en batch⁵) ou en présence d'une résine échangeuse d'ion sur lit fixe ou en batch (UE*, 2002).

⁴ [1] DHI, Study on enhancing the endocrine disrupter priority list with a focus on low production volume chemicals, 2007. <http://www.ec.europa.eu>. [2] HSDB (Hazardous Substance Data Bank) - 4-nonylphénol - Chemical/Physical Properties. Dernière révision : 14/02/2003. <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>. [3] Site internet "ChemGuide". 4-Nonylphénol. Date de consultation : 10/2010 www.chemguideeurope.com. [4] Fiche toxicologique FT249 «NONYLPHENOL et 4-NONYLPHENOL RAMIFIE ». INRS. Edition 2006. [5] European Union Risk Assessment Report- 4.nonylphenol (branched) and nonylphenol. http://ecb.jrc.it/Documents/Existing-Chemicals/RISK_ASSESSMENT/REPORT/4-nonylphenol_nonylphenolreport017.pdf.

⁵ Il s'agit d'un procédé discontinu, les concentrations des réactifs et des produits varient au cours du temps.

2 Réglementation

Outre les données spécifiques au 4-NP linéaire, la réglementation applicable aux mélanges de nonylphénols linéaires concerne également cet isomère qui entre dans leur composition.

2.1 Réglementation spécifique au 4-nonylphénol linéaire (n°CAS 104-40-5)

Le 4-NP est concerné par les réglementations suivantes :

- la directive 67/548/CEE et règlement (CE) n° 1272/2008 ou CLP ;
- le règlement REACH n° 1907/2006 ;
- Le règlement (CE) n°689/2008 du 17 juin 2008 concernant les exportations et importations des produits chimiques dangereux dit « règlement PIC » (Prior Informed Consent).

▪ La directive 67/548/CEE du 27 juin 1997, concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses, et le Règlement (CE) n° 1272/2008 ou CLP (Classification, Labelling, Packaging) du 16 décembre 2008 concernant la classification, l'étiquetage et l'emballage des substances dangereuses

Le 4-nonylphénol n'a pas de classification harmonisée. Cependant, dans le cadre du règlement CLP, les fabricants et importateurs doivent notifier les classifications et étiquetages des substances qu'ils mettent sur le marché (articles 39 à 42 du règlement CLP). Toutes ces notifications sont regroupées dans une base de données qui est l'inventaire des classifications et étiquetages, tenu par l'ECHA⁶. Cette notification s'applique à toutes les substances mises sur le marché dans l'UE :

- si elles sont classées dangereuses, quelles que soient les quantités ;
- si elles ne sont pas classées « dangereuses » mais soumises à l'obligation d'enregistrement conformément au règlement REACH.

Bien qu'il ne s'agisse pas de la classification harmonisée, cet inventaire constitue une source centrale d'informations sur la classification et l'étiquetage des substances pour tous les utilisateurs de produits chimiques.

Attention, tous les notifiants n'ont pas forcément classé cette substance avec toutes ces classes de danger. Il s'agit d'une compilation des différentes classifications proposées par un ou plusieurs déclarants.

Les différentes classifications sont :

- **H302** : Nocif en cas d'ingestion.
- **H314** : Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.
- **H318** : Provoque des lésions oculaires graves.
- **H361** : Susceptible de nuire à la fertilité ou au fœtus .
- **H400** : Très toxique pour les organismes aquatiques.
- **H410** : Très toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.
- **H332** : Nocif par inhalation.

⁶ <http://echa.europa.eu/fr/information-on-chemicals/cl-inventory-database>

- **H411** : Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.
- **H312** : Nocif par contact cutané.
- Le règlement REACH (Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals) (CE) n°1907/2006 du 18 décembre 2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances

Le 4-nonylphénol linéaire, le 4-nonylphénol ramifié, les nonylphénol ainsi que les éthoxylates de nonylphénol (NPEs) sont inscrits à la liste candidate des substances soumises à autorisation (annexe XIV de REACH relative à l'autorisation). Les commentaires des utilisateurs avals sont attendus pour la fin novembre 2014.

- Le règlement (CE) n°689/2008 du 17 juin 2008 concernant les exportations et importations des produits chimiques dangereux dit « règlement PIC » (Prior Informed Consent).

Le 4-NP linéaire figure dans la partie I de l'annexe I du règlement qui liste les substances chimiques soumises à la procédure de notification d'exportation. A ce titre, tout exportateur informe chaque année l'autorité nationale de l'Etat membre des quantités de 4-NP (sous forme d'ingrédient, de mélange ou d'article) qu'il a expédié au cours de l'année précédente. Il en va de même pour les importateurs de 4-NP.

2.2 Réglementation applicable aux mélanges de nonylphénols (n°CAS : 25154-52-3) et au 4-nonylphénol ramifié (n°CAS : 84852-15-3)

Les nonylphénols sont également étiquetés PE de catégorie 1 selon les données du BKH (BKH, 2000).

Les mélanges de nonylphénols et le 4-NP ramifié sont concernés par :

- La directive 67/548/CEE du 27 juin 1997 et le règlement (CE) n°1272/2008 ou règlement CLP (Classification, labelling, packaging) du 16 décembre 2008 concernant la classification, l'étiquetage et l'emballage des substances dangereuses.

Dans le cadre de la mise en place du Système global harmonisé (SGH), le règlement (CE) n° 1272/2008 ou CLP définit au sein de l'Union européenne les obligations concernant la classification, l'étiquetage et l'emballage des substances et des mélanges. Le classement des substances dangereuses qui figurait dans l'annexe I de la Directive 67/548/CEE figure désormais dans l'annexe VI du règlement CLP. A ce titre, le nonylphénol et le 4-NP ramifié sont classés toxiques pour la reproduction de catégorie 2.

Tableau 3 : classification et étiquetage du nonylphénol (n°CAS : 25154-52-3) et du 4-NP ramifié (n°CAS : 84852-15-3) selon la directive 67/548/CEE et le règlement n°1272/2008

	Classification	Limites de concentration spécifiques	Symboles de danger
Règlement (CE) n°1272/2008	H361fd H302 H314 H400 H410	-	    GHS08 GHS07 GHS05 GHS09
Directive 67/548/CEE	Repr. Cat. 3; R62-63 Xn; R22 C; R34 N; R50-53	-	 

- Le Règlement REACH (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals) (CE) n° 1907/2006 du 18 décembre 2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances.

Le 4-nonylphénol linéaire, le 4-nonylphénol ramifié, les nonylphénols ainsi que les éthoxylates de nonylphénol (NPEs) sont inscrits à la liste candidate des substances soumises à autorisation (annexe XIV de REACH relative à l'autorisation). Les commentaires des utilisateurs avals sont attendus pour la fin novembre 2014.

Limitation de la mise sur le marché et de l'emploi du nonylphénol et des éthoxylates de nonylphénol :

Le nonylphénol et les NPEs sont inscrits à l'annexe XVII de REACH relative aux restrictions d'usage de certaines substances. Ils ne peuvent pas être mis sur le marché ou utilisés, comme substances ou mélanges à des concentrations égales ou supérieures à 0,1% en poids pour les usages suivants :

- Nettoyage industriels et institutionnel, sauf :
 - Les systèmes fermés et contrôlés de nettoyage à sec dans lesquels le liquide de nettoyage est recyclé ou incinéré,
 - Les systèmes de nettoyage avec traitement spécial dans lesquels le liquide de nettoyage est recyclé ou incinéré ;
- Nettoyage domestique ;
- Traitement des textiles et du cuir, sauf :
 - Traitement sans rejet dans les eaux usées,
 - Systèmes comportant un traitement spécial dans lequel l'eau utilisée est prétraitée afin de supprimer totalement la fraction organique avant le traitement biologique des eaux usées (dégraissage de peaux de mouton) ;
- Emulsifiant dans les produits agricoles de traitement par immersion des trayons ;
- Usinage des métaux, sauf :
 - Utilisation dans le cadre de systèmes fermés et contrôlés dans lesquels le liquide de nettoyage est recyclé ou incinéré ;
- Fabrication de pâte à papier et de papier ;
- Produits cosmétiques ;
- Autres produits d'hygiène corporelle, à l'exception des spermicides ;
- Coformulants dans les pesticides et biocides. Toutefois, les autorisations nationales de produits phytopharmaceutiques et de produits biocides contenant de l'éthoxylate

de nonylphénol en tant que coformulant accordées avant le 17 juillet 2003 ne sont pas affectées par la restriction jusqu'à date de leur expiration.

De même, les restrictions concernent les produits cosmétiques contenant des traces (concentration à plus de 0,1%) de nonylphénols selon l'entrée 46 de l'annexe XVII.

Ces dispositions sont appliquées depuis le **17 janvier 2005**.

Le 29 juillet 2013, la Suède a déposé auprès de l'ECHA une nouvelle demande de restriction concernant la mise sur le marché de textiles (vêtements, accessoires et textiles d'intérieur) contenant des nonylphénols (isomères linéaires et ramifiés) et des NPEs et pouvant être lavés à l'eau. L'utilisation des nonylphénols et de leurs éthoxylates dans l'industrie textiles en Europe fait déjà l'objet de restrictions depuis 2005. Cette nouvelle demande de restriction complète la précédente puisqu'elle inclue la mise sur le marché de textiles importés depuis des pays non concernés par la précédente restriction. Le RAC et le SEAC ont émis leurs avis, en 2014, concernant cette demande de restriction. Ces avis sont publiés sur le site de l'ECHA. La restriction sera effective dès lors que la Commission Européenne aura étudié les avis du SEAC et du RAC et sera alors intégrée à l'Annexe XVII du règlement REACH. A ce jour (août 2015), la Commission Européenne n'a pas encore rédigé l'amendement modifiant l'annexe XVII pour intégrer cette demande de restriction.

Enfin le 4 nonylphénol ramifié a été inclus dans le CoRAP, avec la Grande Bretagne comme état membre rapporteur pour des suspicions d'effets PBT (persistant, bio-accumulable, toxique) et usages dispersifs....

- Le règlement (CE) n°689/2008 du 17 juin 2008 concernant les exportations et importations de produits chimiques dangereux dit « règlement PIC », au même titre que le 4-NP linéaire.
- Le règlement CE n° 1223/2009 du Parlement européen et du Conseil du 30 novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques.

Les nonylphénols et le 4-NP ramifié figurent dans l'annexe II du règlement (CE) n°1223/2009 qui liste les substances interdites dans les produits cosmétiques.

3 Résultats de l'enquête de filières

Cette partie synthétise l'ensemble des informations recueillies à la fois par les recherches bibliographiques (identification des secteurs d'activité potentiellement concernés par le 4-NP et les usages) et par l'enquête de filières réalisée à l'aide d'un questionnaire électronique adressé aux industriels présents sur le territoire français.

3.1 Production, distribution et importation du 4-NP

3.1.1 Informations issues de la bibliographie

Les données disponibles concernent la famille des nonylphénols.

Selon une étude de la Commission européenne, la production de nonylphénols en Union européenne était de 73 500 tonnes en 1997 (UE*, 2002). Les détails des volumes produits, exportés et importés cette année-là sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Volume de production, exportations et importations des nonylphénols en Europe en 1997

	Volume (tonne/an)
Production au sein de l'UE	73 500
Quantité exportée par l'UE	3 500
Quantité importée par l'UE	8 500
Tonnage utilisé au sein de l'UE (Production + Imports – Exports)	78 500

Les recherches bibliographiques n'ont pas permis de trouver des données complètes plus récentes sur la consommation de nonylphénols en France ou en Europe. Cependant, il semble que la production et l'utilisation soient sur le déclin (Ineris*, 2005).

Les données d'exportation des nonylphénols et de leurs éthoxylates enregistrées pour l'Union Européenne, entre 2004 et 2008, sont présentées dans le tableau 5 (CE*, 2010).

Tableau 5 : Quantités (en tonnes par an) de nonylphénols et de NPEs exportées hors de l'Union Européenne

Produits chimiques exportés	2004	2005	2006	2007	2008
Nonylphénols	Non disponible	Non disponible	373,77	2 774,81	736
Ethoxylates de nonylphénols	Non disponible	Non disponible	10 561,36	9 777,43	16 613
TOTAL	24 034	24 561,68	10 935,13	12 552,24	17 349

Par ailleurs, si le 4-NP linéaire (n°CAS : 140-40-5) n'est ni classé HPV (fabriqué ou importé à raison d'au moins 1000 tonnes par an dans l'Union européenne, et ce par au moins un Etat Membre), ni LPV (produit ou importé dans l'Union européenne à plus de 10 tonnes par an et ne dépassant pas 1000 tonnes/an) par l'European chemical Substances Information System (ESIS), les mélanges de nonylphénols et le 4-NP ramifié sont classés HPV (OCDE*, 2009).

Aucun importateur/producteur/distributeur de nonylphénols n'a été identifié sur le sol français dans la bibliographie.

3.1.2 Tonnages de la substance : résultats issus de l'enquête de filières

L'enquête de filières, menée auprès des industriels, a permis d'obtenir une liste non exhaustive d'entreprises concernées par le 4-NP. Les informations recueillies concernent spécifiquement le 4-NP linéaire.

Ainsi 10 entreprises⁷ ont répondu, via le questionnaire en ligne, être concernées par le 4-NP et 5 d'entre elles ont clairement déclaré les quantités mises en œuvre (fabriquées, utilisées, distribuées, importées) sur les cinq dernières années. Ces tonnages globaux sont rapportés dans les tableaux 6 et 7.

Les autres entreprises n'ont pas répondu à cette question.

Tableau 6 : Quantités annuelles de 4-NP mises en œuvre en France déclarées lors de l'enquête en ligne

kilos				
2005	2006	2007	2008	2009
2000	1500	41 240	76 344	51 402

Tableau 7 : Quantités de 4-NP fabriquées, importées ou distribuées en France déclarées lors de l'enquête en ligne

Activité ⁸	2005 (kilos)	2006 (kilos)	2007 (kilos)	2008 (kilos)	2009 (kilos)
<u>Fabricant</u>	/	/	/	/	/
<u>Distributeur</u>	/	/	/	/	/
<u>Importateur</u>	/	/	/	/	/
<u>Utilisateur Aval</u>	<u>2000</u>	<u>1500</u>	<u>41 240</u>	<u>76 344</u>	<u>51 402</u>

Comme indiqué précédemment seules 5 entreprises ont renseigné les quantités annuelles 4-NP mises en œuvre. En effet, les 5 entreprises restantes n'ont pas été en mesure de répondre à cette question de manière précise et ont pour la plupart donné une tendance d'utilisation de cette substance. L'analyse des réponses obtenues pour ces entreprises indique une utilisation du 4-NP en faible quantité, environ 10-50 kilos par an.

⁷ Les entreprises ayant répondu au questionnaire ne sont pas obligatoirement celles ayant été contactées pour vérifier les informations issues de la bibliographie

⁸ Certaines entreprises peuvent avoir plusieurs activités pour une même substance, dans ce cas le tonnage indiqué est global et la part pour chaque activité est inconnue.

3.2 Identification des usages et des secteurs d'activités

Quarante-quatre secteurs d'activités ont été recensés comme étant potentiellement concernés par le 4-NP en France. Le tableau 8 liste ces secteurs d'activité identifiés dans la bibliographie et dans l'enquête réalisée auprès des industriels.

Tableau 8 : Comparaison des secteurs d'activités recensés dans la bibliographie et lors de l'enquête de filières⁹

	Secteurs d'activité recensés dans la bibliographie	Secteurs d'activité déclarés lors de l'enquête en ligne	Nombre d'entreprises s'étant déclarées concernées par le 4-NP	Fabricant	Utilisateur aval	Distributeur	Importateur	Autre
13.30Z : Ennoblement textile	x	x	1		1			
13.92Z : Fabrication d'articles textiles, sauf habillement	x							
13.96Z : Fabrication d'autres textiles techniques et industriels	x							
14.11Z : Fabrication de vêtements en cuir	x							
15.11Z : Apprêt et tannage des cuirs ; préparation et teinture des fourrures	x							
15.12Z : Fabrication d'articles de voyage, de maroquinerie et de sellerie	x							
15.20Z : Fabrication de chaussures	x							
16.21Z : Fabrication de placage et de panneaux de bois	x							
16.22Z : Fabrication de parquets assemblés	x							
16.23Z : Fabrication de charpentes et d'autres menuiseries	x							
16.24Z : Fabrication d'emballages en bois	x							
16.29Z : Fabrication d'objets divers en bois ; fabrication d'objets en liège, vannerie et sparterie	x							
17.11Z : Fabrication de pâte à papier	x							
17.12Z : Fabrication de papier et de carton	x							
17.21 : Fabrication de papier et carton ondulés et d'emballages en papier ou en carton	x							
17.22 : Fabrication d'articles en papier à usage sanitaire ou domestique	x							
17.23 : Fabrication d'articles de papeterie	x							
17.29 : Fabrication d'autres articles en papier ou en carton	x							

⁹ Une entreprise peut avoir plusieurs activités

	Secteurs d'activité recensés dans la bibliographie	Secteurs d'activité déclarés lors de l'enquête en ligne	Nombre d'entreprises s'étant déclarées concernées par le 4-NP	Fabricant	Utilisateur aval	Distributeur	Importateur	Autre
20.15Z : Fabrication de produits azotés et d'engrais	x							
20.16Z : Fabrication de matières plastiques de base	x	x	1		1			
20.20Z : Fabrication de pesticides et d'autres produits agrochimiques	x							
20.30Z : Fabrication de peintures, vernis, encres et mastics	x	x	1		1			
20.41Z : Fabrication de savons, détergents et produits d'entretien	x							
20.42Z : Fabrication de parfums et de produits pour la toilette	x							
20.52Z : Fabrication de colles	x							
20.59Z : Émulsions sensibilisatrices pour usages photographiques ; mélanges chimiques pour usages photographiques non classé ailleurs.	x							
22.21Z : Fabrication de plaques, feuilles, tubes et profilés en matières plastiques	x							
22.22Z : Fabrication d'emballages en matières plastiques	x							
22.23Z : Fabrication d'éléments en matières plastiques pour la construction	x							
22.29A : Fabrication de pièces techniques à base de matières plastiques	x							
22.29B : Fabrication de produits de consommation courante en matières plastiques	x							
23.51Z : Fabrication de ciment	x							
23.61Z : Fabrication d'éléments en béton pour la construction	x							
23.63Z : Fabrication de béton prêt à l'emploi	x							
23.65Z : Fabrication d'ouvrages en fibre-ciment	x							
23.69Z : Fabrication d'autres ouvrages en béton, en ciment ou en plâtre	x							
32.40Z : Fabrication de jeux et jouets	x							
46.12B : Autres intermédiaires du commerce en combustibles, métaux, minéraux et produits chimiques	x							

	Secteurs d'activité recensés dans la bibliographie	Secteurs d'activité déclarés lors de l'enquête en ligne	Nombre d'entreprises s'étant déclarées concernées par le 4-NP	Fabricant	Utilisateur aval	Distributeur	Importateur	Autre
46.75Z : Commerce de gros (commerce interentreprises) de produits chimiques	x	x	2			1	1	
20.12Z : Fabrication de colorants et de pigments		x	1		1			
20.14Z : Fabrication d'autres produits chimiques organiques de base		x	1		1			
25.50B : Découpage, emboutissage		x	1				1	
31.02Z : Fabrication de meubles de cuisine		x	1		1			
33.11Z : Réparation d'ouvrages en métaux		x	1		1			

3.2.1 Usages identifiés dans la bibliographie

Le 4-NP linéaire entre dans la composition de mélanges de nonylphénols utilisés dans divers secteurs industriels. Les recherches bibliographiques n'ont pas permis d'identifier d'articles ou de mélanges contenant spécifiquement cet isomère et reposent sur l'utilisation de mélanges commerciaux (constitués entre autres de 4-NP linéaire mais en proportion inconnue).

La principale source d'information est le rapport d'évaluation des risques européen relatif aux mélanges de nonylphénols (n°CAS 25154-52-3) et au 4-NP ramifié (n°CAS : 84852-15-3) de 2002 et concerne les usages liés au nonylphénol commercial (UE*, 2002).

En Europe, le nonylphénol est utilisé principalement (UE*, 2002 ; Ineris*, 2005 ; INRS*, 2006).

- comme intermédiaire pour produire des NPEs aux utilisations variées.
- dans la fabrication de certaines matières plastiques telles que :
 - des résines phénol-formaldéhyde,
 - du trinophyphénol phosphite (TNPP),
 - des résines époxy.

Les volumes de nonylphénol utilisés pour ces usages dans l'Union européenne sont présentés dans le tableau 9 (UE*, 2002).

Tableau 9 : Principales utilisations des nonylphénols dans l'UE en 1994 et 1997

	Volume (tonnes)		Utilisation (%)	
	1994	1997	1994	1997
Production d'éthoxylates de nonylphénols	42 350	47 000	54%	60%
Production de résines, plastiques, stabilisants, ...	33 750	29 000	43%	37%
Production de résines phénoliques	2 400	2 500	3%	3%
TOTAL	78 500	78 500	100%	100%

3.2.1.1 Intermédiaire de synthèse des éthoxylates de nonylphénol (NPEs)

Il s'agit de l'emploi majoritaire du nonylphénol.

Bien que le nonylphénol soit normalement entièrement consommé lors de la réaction d'éthoxylation, de très faibles quantités de nonylphénol libre sont susceptibles d'être retrouvées dans les produits fabriqués à partir de NPEs (UE*, 2002).

Dans l'environnement, les NPEs ne sont pas stables et sont rapidement dégradés en nonylphénol (Ineris*, 2005).

Deux ou trois sites produisant des NPEs en quantité significative ont été identifiés en France en 2005 (Ineris*, 2005).

Les NPEs sont utilisés pour leurs excellentes propriétés tensioactives. Majoritairement utilisés comme agent de mouillage, émulsifiant, dispersant ou détergents, ils sont incorporés dans des formulations et employés par plusieurs secteurs industriels tels que (UE*, 2002) :

- l'industrie agricole (phytosanitaires, engrais),
- l'industrie des matières plastiques,
- l'industrie du cuir et des peaux,
- l'industrie des textiles,

- l'industrie du papier,
- l'industrie de la construction,
- l'industrie des produits d'entretien,
- l'industrie des cosmétiques.

Plusieurs de ces usages, décrits dans les paragraphes suivants, sont soumis à restriction (annexe XVII du règlement REACH) depuis le 17 janvier 2005.

3.2.1.1.1 Industrie des matières plastiques

Les NPEs interviennent dans la fabrication de nombreuses matières plastiques, lorsque celles-ci sont produites par un procédé en émulsion (polymérisation en phase aqueuse). Dans ce cas, les NPEs peuvent être présents dans des additifs dispersants, dont le but est de maintenir le polymère en émulsion dans la solution aqueuse (UE*, 2002 ; Ineris*, 2005).

Les NPEs permettent majoritairement la fabrication de PVC (Ineris*, 2005).

3.2.1.1.2 Industrie des produits phytosanitaires

Les NPEs peuvent intervenir dans la production de produits phytosanitaires dans lesquels ils sont utilisés en tant qu'agents mouillants, dispersants et comme émulsifiants (Kirk et Othmer*, 2007 ; UE*, 2002).

L'inscription du nonylphénol et des NPEs en annexe XVII du règlement REACH indique qu'ils ne peuvent être ni mis sur le marché, ni utilisés en tant que substances ou comme constituants de mélanges à des concentrations supérieures à 0,1 % en masse en tant que formulant et adjuvant de produits phytopharmaceutiques ou de biocides.

3.2.1.1.3 Industrie des engrais

L'utilisation des NPEs dans l'industrie des engrais n'est pas fréquemment documentée, mais il semblerait que ces substances soient parfois utilisées comme anti-mottants, anti-collants pour la préparation de l'acide phosphorique (Ineris*, 2005). Aucune information complémentaire ne confirme cet usage.

3.2.1.1.4 Industrie du cuir et des peaux

Les NPEs sont employés en tannerie dans des produits assurant diverses fonctions : des fongicides, des produits utilisés lors du dégraissage ou des produits pour la teinture. Les restrictions d'emploi du nonylphénol et des NPEs indiquent qu'ils ne peuvent être utilisés en tant que substances ou comme constituants de mélanges à des concentrations supérieures à 0,1 % en masse pour le traitement du cuir, sauf dans les cas suivants :

- lorsque le traitement est sans rejet dans les eaux usées,
- lorsque l'eau utilisée lors d'un traitement spécial est prétraitée afin de supprimer totalement la fraction organique avant le traitement biologique des eaux usées.

3.2.1.1.5 Industrie du papier

Les NPEs entrent dans la composition de produits utilisés pour le désencrage des papiers à recycler, des produits anti-mousse et des dispersants.

Selon la directive 76/769/CE, reprise en annexe XVII du règlement REACH, les NPEs ne peuvent entrer à des concentrations supérieures à 0,1 % en masse dans la fabrication de pâte à papier et de papier recyclé.

3.2.1.1.6 Industrie textile

Les NPEs peuvent être utilisés dans les produits de traitement des textiles (décapage, teinture, finition) lors de leur manufacture (UE*, 2002 ; Ineris*, 2005 ; Ineris*, 2008).

En Europe, ces utilisations sont strictement réglementées depuis 2005 en limitant à 0,1% massique la teneur en nonylphénols et en NPEs dans tous les produits de traitement des

textiles (sauf lorsque le traitement est sans rejet dans les eaux usées ou que l'eau utilisée lors d'un traitement spécial est prétraitée afin de supprimer totalement la fraction organique avant le traitement biologique des eaux usées).

Néanmoins, la fabrication de textiles hors UE, où l'industrie n'est pas concernée par cette restriction, peut constituer une source d'exposition des consommateurs lors de leur importation. La présence de NPEs dans des textiles importés en Europe a notamment été mise en évidence récemment par une étude de Greenpeace. Soixante-dix-huit textiles, manufacturés dans treize pays différents (principalement en Asie) et achetés dans dix-huit pays (plusieurs échantillons proviennent d'Europe) d'avril à mai 2011 ont été analysés. Dans deux tiers des échantillons testés, les concentrations en NPEs s'échelonnent de 1 (limite de détection) à 1100 mg.kg⁻¹ (Greenpeace, 2011). En 2014, Greenpeace a publié une campagne de mesure dans 27 vêtements destinés aux enfants dits « de luxe ». Les NPEs ont été mesurés dans 44 % des textiles, à des concentrations allant jusqu'à 760 mg.kg⁻¹ (Greenpeace, 2014). Les NPEs ont notamment été retrouvés dans des textiles manufacturés en Europe où leur emploi dans l'industrie des textiles est restreint depuis 2005. Ces résultats suggèrent, selon les auteurs, qu'une partie des matériaux utilisés dans la manufacture de ces textiles a été importée d'un pays où les NPEs ne sont pas réglementés.

A ce titre, une nouvelle proposition de restriction visant à interdire l'importation de textiles contenant des nonylphénols ou des NPEs sera déposée auprès de l'ECHA par la Suède en juillet 2013.

3.2.1.1.7 Industrie de la construction

Les NPEs seraient utilisés dans certains additifs pour le béton, le ciment, le nettoyage des sables et les émulsions de bitumes (UE*, 2002 ; Ineris*, 2005)

Les NPEs peuvent également être utilisés pour le traitement du bois et des métaux. Ils sont utilisés en tant que tensioactifs dans les mélanges appliqués sur le bois pour le protéger des termites et de la pourriture. Les métaux utilisés en construction peuvent également être nettoyés avec des détergents contenant des NPEs. Ce dernier usage est soumis à restriction (annexe XVII du règlement REACH).

3.2.1.1.8 Industrie des produits d'entretien

Les NPEs peuvent entrer dans la composition de produits d'entretien tels que les lessives, les détergents ou les désodorisants d'ambiance (Ineris*, 2005 ; Kirk et Othmer*, 2007).

La directive 67/769/CE, reprise en annexe XVII du règlement REACH stipule que la concentration en nonylphénol et en NPEs est limitée dans tous les produits de nettoyage à 0,1 %.

3.2.1.1.9 Industrie des cosmétiques

Le rapport de l'Ineris indique que les NPEs peuvent, en théorie, se retrouver dans les produits cosmétiques. Cet usage est interdit par le règlement n°1223/2009 du 30 novembre 2009 (inscription en annexe II) (HSDB*, 2010 ; Ineris*, 2005).

3.2.1.2 Intermédiaire de synthèse des résines phénol-formaldéhyde

Le nonylphénol peut entrer dans la formulation des résines phénol-formaldéhyde en temps que monomère, leur conférant ainsi une grande solubilité (Ineris*, 2005). Une société utilisant des nonylphénols pour produire des résines formo-phénoliques en France a été identifiée par le prestataire extérieur.

Ces résines formophénoliques (plus connues sous le nom de *bakélite*) sont généralement utilisées dans :

- l'industrie des encres (d'impression) et des vernis,

- l'industrie des colles et des adhésifs,
- l'industrie du papier (papiers enduits).

Il est possible que du nonylphénol soit retrouvé à l'état de trace en tant que monomère résiduel. Néanmoins, sa migration en dehors de la résine sera lente (source interne).

3.2.1.3 Intermédiaire de synthèse des résines époxy

Le nonylphénol est utilisé comme catalyseur dans l'industrie des résines époxy. Il est également utilisé comme durcisseur ou liant dans des résines distribuées en France et utilisées dans :

- l'industrie des peintures et vernis (destinés au revêtement d'autres matières plastiques),
- l'industrie des colles et adhésifs.

Il n'est pas exclu que ces produits contiennent du nonylphénol libre n'ayant pas réagi à l'état de traces. Néanmoins, sa migration en dehors de la résine sera lente (source interne).

Selon l'organisation professionnelle du secteur, 20 à 30% de la profession continue actuellement d'utiliser les nonylphénols. Cet emploi se ferait majoritairement dans les petites et moyennes entreprises (PME), les grandes entreprises ne les utilisant plus ou ayant programmé leur substitution dans un avenir proche (UE*, 2002 ; INRS*, 2005 ; Ineris*, 2006).

3.2.1.4 Intermédiaire de synthèse du Tris(nonylphényl)phosphite (TNPP)

Le nonylphénol est également utilisé comme intermédiaire dans la production d'un additif plastique, le Tris(nonylphényl)phosphite (TNPP). Ce dernier est employé comme stabilisateur dans certains polymères tels que le polyéthylène et le PVC (Ineris*, 2005).

Il est possible que de faibles proportions de nonylphénol n'ayant pas réagi soient retrouvées au sein de produits finis en PVC ou polyéthylène de haute densité (Loyo-Rosales* *et al.*, 2004). De même, le nonylphénol a été retrouvé dans des jouets en PVC destinés aux enfants (Greenpeace*, 2000).

3.2.1.5 Autres utilisations

Dans d'autres pays que la France, des nonylphénols et des NPEs ont été mis en évidence dans des articles et des mélanges à destination du grand public. Ainsi des nonylphénols ont été identifiés dans les produits suivants (Greenpeace*, 2000 ; Loyo-Rosales *et al.*, 2004) :

- de jouets,
- de peintures,
- de produits de nettoyage domestique,
- de bouteilles d'eau en plastique,
- de bouteilles de lait,
- de produits de soin pour bébé.

Les nonylphénols seraient également utilisés à l'étranger dans l'industrie d'extraction du pétrole (Ineris*, 2005) via la production de résines formophénoliques éthoxylées. Il semble, sur la base des informations fournies par un industriel utilisateur de ces résines, que cette activité ne concerne que quelques centaines de tonnes de résine par an en Europe.

Enfin, selon le rapport d'évaluation des risques européen, le nonylphénol et les NPEs pourraient également être utilisés (aucune localisation géographique) dans (UE*, 2002) :

- l'industrie d'extraction de métaux,
- l'industrie de la photographie : les NPEs sont utilisés dans le développement des films photographiques. Ainsi, ils seraient aussi bien présents dans les produits de

développement utilisés par le photographe amateur que par le photographe professionnel. La concentration des nonylphénol éthoxylates dans ces produits varie entre 3 et 5 %.

Les informations obtenues auprès de l'industrie de la photographie indiquent que l'utilisation de ces produits varie d'une société à une autre. Certaines sociétés n'utilisent aucun produit à base d'éthoxylates de nonylphénols.

Aux Etats-Unis, Dodson *et al.*, ont mesuré deux NPEs (nonylphenol diethoxylate, nonylphenol monoethoxylate) dans 50 types de produits de consommation, en ciblant particulièrement les produits d'entretien et des produits cosmétiques (Dodson *et al.*, 2012). Le 4-nonylphénol ramifié a également été recherché dans ces produits. Les produits testés sont des produits en vente aux Etats-Unis. Pour chaque type de produit testé, les auteurs en ont identifié plusieurs, dits « conventionnels » et un, dit « alternatif ». Un produit « alternatif » est défini, selon les auteurs, comme un produit ne devant pas avoir dans sa composition donnée sur l'étiquette, l'un des termes suivants : parabens, éthanolamines, 1,4-dichlorobenzène, surfactants non ioniques, parfums, triclosan, triclocarban, antibactérien, vinyle, résistant aux tâches, huile d'arbre à thé, lavande, à base de pétrole.

La limite de détection est établie à $1 \mu\text{g.g}^{-1}$.

La liste des produits dans lesquels le nonylphénol diethoxylate, le nonylphénol monoethoxylate et le 4-nonylphénol ramifié ont été mesurés est présentée dans le tableau suivant. Le chiffre entre parenthèse correspond au nombre de produits conventionnels dans lesquels les substances ont été recherchées.

<u>Produits « conventionnels »*</u>	<u>Concentration en nonylphénol diethoxylate</u> <u>($\mu\text{g.g}^{-1}$)</u>	<u>Concentration en nonylphénol monoethoxylate</u> <u>($\mu\text{g.g}^{-1}$)</u>	<u>Concentration en 4-nonylphénol ramifié</u> <u>($\mu\text{g.g}^{-1}$)</u>
Litière pour chat (3)	ND	ND	ND
Protège oreiller (1)	>1 – 100	ND	>1 – 100
Couches (4)	ND	ND	>1 – 100
Nettoyant de surface (5)	ND	ND	ND
Nettoyant pour sol (3)	ND	ND	ND
Nettoyant pour vitre (3)	ND	ND	ND
Poudre à récurer (4)	ND	ND	ND
Nettoyant baignoire & carrelage (3)	>1 – 100	ND	>1 – 100
Détergent vaisselle (4)	ND	ND	ND
Liquide vaisselle (4)	ND	ND	ND
Eau de javel (4)	>1 – 100	>1 – 100	>1 – 100
Lessive (6)	>1 – 100	>1 – 100	ND
Détachant (5)	ND	ND	ND
Désinfectant pour main (3)	ND	ND	ND
Savon pour main (4)	ND	ND	ND
Barre de savon (4)	>1 – 100	>1 – 100	ND
Lotion pour le corps (5)	ND	ND	ND
Shampoing (5)	ND	ND	ND
Après-shampoing (4)	ND	ND	ND
Crème à raser (4)	ND	ND	>1 – 100
Lotion pour le visage (6)	ND	ND	>1 – 100
Nettoyant visage (7)	ND	ND	ND
Dentifrice (3)	ND	ND	ND
Déodorant (4)	ND	ND	ND
Fond de teint (6)	ND	ND	ND
Rouge à lèvres (4)	>1 – 100	ND	>1 – 100
Mascara (3)	>1 – 100	ND	ND
Rideau de douche en vinyl (2)	ND	ND	> 100 - 1000
Nettoyant pour intérieur de voiture (2)	ND	ND	ND
Désodorisant pour voiture (2)	ND	ND	ND
Lingette pour sèche-linge (5)	ND	ND	>1 – 100
Nettoyant pour tapis/moquette	ND	ND	ND
Désodorisant textile (2)	>1 – 100	ND	ND

Désodorisant d'atmosphère (5)	ND	ND	>1 – 100
Vernis, cire (7)	ND	ND	ND
Nettoyant pour cuvette de toilette (2)	>1 – 100	ND	ND
Serpillère pré-imprégnée (4)	ND	ND	>1 – 100
Laque, mousse, gel pour cheveux (5)	ND	ND	>1 – 100
Parfum (4)	ND	ND	ND
Gel douche pour le corps (5)	ND	ND	ND
Vernis à ongle (4)	ND	ND	ND
Ecran solaire (4)	ND	ND	ND

<u>Produits « alternatifs »</u>	<u>Concentration en nonylphénol diéthoxylate ($\mu\text{g.g}^{-1}$)</u>	<u>Concentration en nonylphénol monoéthoxylate ($\mu\text{g.g}^{-1}$)</u>	<u>Concentration en 4-nonylphénol ramifié ($\mu\text{g.g}^{-1}$)</u>
Litière pour chat*	ND	ND	ND
Protège oreiller*	>1 – 100	ND	ND
Couches*	ND	ND	ND
Nettoyant de surface*	ND	ND	ND
Nettoyant pour sol*	>1 – 100	>1 – 100	>1 – 100
Nettoyant pour vitre*	>1 – 100	ND	ND
Poudre à récurer*	ND	ND	ND
Nettoyant baignoire & carrelage*	ND	ND	ND
Détergent vaisselle*	ND	ND	ND
Liquide vaisselle*	ND	ND	ND
Eau de javel*	ND	ND	ND
Lessive*	>1 – 100	ND	ND
Détachant*	ND	ND	ND
Désinfectant pour main*	ND	ND	ND
Savon pour main*	ND	ND	ND
Barre de savon*	ND	ND	ND
Lotion pour le corps*	ND	ND	ND
Shampooing*	>1 – 100	ND	ND
Après-shampooing*	ND	ND	ND
Crème à raser*	>1 – 100	>1 – 100	ND
Lotion pour le visage*	ND	ND	ND
Nettoyant visage*	ND	ND	ND
Dentifrice*	>1 – 100	ND	>1 – 100
Déodorant*	ND	ND	ND
Fond de teint*	ND	ND	ND
Rouge à lèvres*	ND	ND	ND
Rideau de douche en coton*	ND	ND	ND
Rideau de douche en nylon*	ND	ND	ND
Savon de Castille*	ND	ND	ND
Produit javelissant*	>1 – 100	ND	ND
Vinaigre*	ND	ND	ND
Bicarbonate de soude*	ND	ND	ND
Huile d'olive*	ND	ND	ND
Borate de sodium*	ND	ND	>1 – 100
Gel coiffant*	ND	ND	ND
Laque*	ND	ND	ND
Baum pour lèvres*	>1 – 100	>1 – 100	ND
Ecran solaire composite*	ND	ND	ND

Rapportées en pourcentages massiques, les gammes de concentrations en nonylphénol diéthoxylate, nonylphénol monoéthoxylate et en 4-nonylphénol ramifié mesurés dans les produits conventionnels et alternatifs varient de 0,001 à 0,01 % ($1 \mu\text{g.g}^{-1}$ à $100 \mu\text{g.g}^{-1}$) et de 0,01 à 0,1 % ($100 \mu\text{g.g}^{-1}$ à $1000 \mu\text{g.g}^{-1}$).

Plus récemment, Liao et Kannan (2014) ont mesuré le 4-NP (identifié par son numéro CAS comme étant le 4-NP linéaire) dans 231 produits cosmétiques achetés aux USA et en Chine. Les produits testés sont des dentifrices, des produits pour les cheveux, des produits maquillant, des produits pour la peau, des savons et des nettoyants corporels. La limite de quantification est de $0,5 \text{ ng.g}^{-1}$. Le 4-NP a été détecté dans 53 % des échantillons, à des concentrations variant de la limite de quantification à $39\,100 \text{ ng.g}^{-1}$ (soit 0,0391 % massique).

L'annexe 1 présente un récapitulatif des articles et mélanges susceptibles de contenir du 4-NP selon l'étude bibliographique. Pour rappel, l'utilisation de nonylphénols dans les cosmétiques est interdite en Europe.

3.2.2 Usages identifiés via les industriels

Suite à l'enquête de filières, les secteurs d'activité identifiés ci-dessus ont été interrogés selon la méthodologie décrite dans le chapitre 3.4 du rapport « Méthode d'évaluation des risques sanitaires liés à la présence de substances reprotoxiques et/ou perturbatrices endocriniennes dans les produits de consommation » (Anses, 2014). Dix entreprises se sont déclarées, via l'enquête en ligne, comme étant concernées par le 4-NP, qu'elles soient productrices ou utilisatrices de la substance, d'un sous ensemble d'articles ou de mélanges contenant du 4-NP ou bien d'un article ou d'un mélange. Aucune de ces entreprises ne s'est déclarée fabricante d'un ensemble ou sous ensemble d'articles et/ou de mélanges.

3.3 Contact auprès des fédérations

Par ailleurs, des fédérations professionnelles ont également été contactées, la liste complète est disponible en annexe 2.

- Le Centre technique du cuir (CTC) indique que le 4-nonylphénol peut entrer dans la composition de certains produits utilisés en tannerie.
- La Confédération française de fabricants de papiers, cartons et celluloses (COPACEL) indique que les nonylphénols sont interdits d'utilisation dans les papèteries françaises. Elle précise cependant qu'il est possible d'en trouver dans les mesures sur les rejets aqueux des industriels français. Ceci peut s'expliquer par le fait que les papèteries fabriquent également du papier à partir de papier recyclé et ce dernier peut provenir de pays divers dans lesquels ces substances ne sont pas interdites, et peuvent peut-être donc contenir des nonylphénols.
- Le Centre technique du papier (CTP) confirme les indications de la COPACEL à savoir que les nonylphénols, bien qu'interdits, peuvent se retrouver à l'état de trace dans les eaux résiduaires, et soulève la question de la composition des tensioactifs utilisés dans le process papetier : ces produits tensioactifs pourraient contenir des nonylphénols à des faibles concentrations inférieures à 0,1%.
- Le Centre technique de la teinture et du nettoyage (CTTN) indique que normalement, les dérivés du phénol (hormis le chlorocrésol) ne devraient plus être utilisés dans les formulations des lessives grand public (la réglementation les interdit).
- Le Centre technique des industries de la fonderie (CTIF) indique que la fonderie n'utilise pas de dérivés du phénol. Compte tenu des procédés thermiques, des produits de dégradation des liants sont susceptibles de se former (phénol ou dérivés, toluène éventuellement) mais ils sont aspirés dans les fumées.
- L'Organisation professionnelle des fabricants d'emballage en carton ondulé de France (ONDEF) indique que les dérivés du phénol n'entrent pas dans la fabrication des emballages en carton ondulé.

4 Résultats de l'extraction des bases de données

L'identification des produits de consommation a été complétée par l'extraction de bases de données.

4.1 Extraction de la Base nationale des produits et compositions (BNPC)

La base nationale des produits et compositions a été consultée en août 2010. Elle liste les mélanges chimiques pour lesquels une déclaration a été faite auprès des centres antipoison entre 2000 et 2010 : sur cette période aucun mélange contenant du 4-NP n'a été enregistrée. Un seul produit contenant du nonylphénol est enregistré. Il s'agit d'un mélange destiné aux professionnels pour la synthèse de tensio-actifs. Enfin, de nombreux agents contenant du nonylphénol éthoxylé à des degrés divers (tensio-actifs non ioniques) sont enregistrés.

4.2 Extraction de la base de données Sepia

La base de données Sepia de l'INRS concerne les mélanges chimiques mis sur le marché français. Elle est alimentée par les déclarations obligatoires des mélanges classés très toxiques, toxiques, corrosifs ou biocides, par les informations fournies suite à une demande de l'INRS, et dans une moindre mesure, par des renseignements envoyés spontanément par les industriels.

L'extraction de la base de données Sepia (INRS) a été réalisée en août 2010. Elle intègre les données disponibles entre le 01/01/2000 et le 28/02/2010.

Tableau 10 : Synthèse des produits contenant du 4-NP à destination de la population générale et/ou professionnelle

Catégorie de mélanges ou articles	Nombre de références
Produits d'entretien ménagers et industriels – détartrant décapant, détergent d'atelier, produits lavage sol mur surface, désinfectant, lessives et additifs	29
Produits phytosanitaires – fongicides, produits traitement bois notamment lasures, bactéricides, peintures, vernis encre d'imprimerie et produits connexes	2
Reproduction – dont produits offset sauf encre, notamment nettoyant...	2
Produits pour le bâtiment	1
Produits pour caoutchouc et matières plastiques	1
Produits pour le cuir	1
Matières colorantes	1
Produits à usage métallurgiques et mécanique – décapants, dégraissant, huiles de coupe simple	10
Peintures, vernis, encre d'imprimerie et produits connexes	1
Produits pour l'industrie textile et teinturerie	1
Divers – tensio-actifs, ignifugeants, produits traitement des eaux	11

Il est à noter que pour deux mélanges aucune classe d'usage n'a été identifiée.
Les intervalles de concentration sont précisés dans le tableau 11.

Tableau 11 : Pourcentages et nombre de mélanges de la base Sepia contenant du 4-NP par intervalles de concentration

Intervalles de concentration	<1%	[1-5%]]5-20%]]20-50%]]50-100%]	% non précisé
Nombre de mélanges contenant du 4-nonylphénol du 01/01/2000 au 28/02/2010 N = 64 (100%)	11 (17,2%)	34 (53,1%)	14 (21,9%)	1 (1,6%)	2 (3,1%)	2(3,1%)

Aucune information supplémentaire n'est disponible.

5 Synthèse des mélanges et articles identifiés

Les articles et mélanges recensés et leurs sources ont été regroupés dans le tableau 12.

Tableau 12 : Synthèse des usages répertoriés

Catégorie de mélanges ou articles	Présence dans la BNPC	Présence dans Sepia	Informations extraites de l'enquête de filière	Informations issues de la bibliographie
A partir d'éthoxylates de nonylphénol (NPEs)				
Matières plastiques, PVC		x		x
Produits phytosanitaires		x		x
Engrais				x
Industrie du textile et du cuir – produits de traitement		x		x
Textile (produit fini)				x
Industrie du papier				x
Industrie de la construction (additif béton, nettoyage des sables, émulsions bitumes, produits de traitement du bois et des métaux)		x		x
Produits d'entretien domestiques (lessives, détergents, désodorisants d'ambiance)		x		x
Produits d'entretien industriel		x		x
Cosmétiques				x
A partir des résines phénol-formaldéhyde				
Encres/verniss		x		x
Colles et adhésifs				x
Industrie du papier				x
A partir des résines époxy				
Peintures, verniss		x		x
Colles et adhésifs				x
A partir du tri-nonylphénolphosphite				
Polyéthylène, PVC		x		x
Autres				
Industrie de l'extraction du pétrole				x
Industrie de l'extraction des métaux				x
Industrie de la photographie				x
Produits à usage métallurgique et mécanique (Décapants, dégraissants, huiles de coupe)		x		
Produits nettoyants dans l'industrie de la reproduction		x		
Divers (Ignifugeant, retardateur de combustion, produits de traitement des eaux, tensio-actifs)		x		
Médicaments vétérinaires				

6 Identification de données d'exposition relatives aux environnements domestiques et/ou extérieurs

La méthode employée pour la recherche bibliographique est explicitée dans le chapitre 3.7 du rapport « Méthode d'évaluation des risques sanitaires liés à la présence de substances reprotoxiques et/ou perturbatrices endocriniennes dans les produits de consommation » (Anses, 2014).

6.1 Données sur l'air intérieur des logements et l'air extérieur

La multitude d'isomères du nonylphénol rend leur séparation chromatographique difficile et la plupart des données rapportées dans la bibliographie ne permettent pas de déterminer spécifiquement l'isomère mesuré. Elles sont souvent, par défaut, représentatives des nonylphénols en général ou des mélanges de 4-nonylphénols (linéaire et ramifiés).

Aucune donnée française rapportant des concentrations de nonylphénol dans l'air intérieur, et extérieur n'a été identifiée dans la littérature.

Trois études présentant des résultats de mesure dans l'air extérieur en Europe (Allemagne et Grèce) ont été identifiées dans la littérature (Berkner *et al.*, 2004 ; Xie *et al.*, 2006 ; Salapasidou *et al.*, 2011). Seule l'étude de Salapasidou *et al.*, présente des résultats de mesures postérieures à la restriction d'emploi des nonylphénols.

Les études identifiées dans la littérature sont détaillées ci-dessous.

Van Ry *et al.* ont évalué l'occurrence du *tert*-octylphénol et du nonylphénol dans l'atmosphère de l'estuaire de la rivière Hudson aux Etats-Unis entre juin et décembre 1998 (Van Ry *et al.*, 2000). L'estuaire de la rivière Hudson est situé entre New York et le New Jersey (zone métropolitaine densément peuplée). Des prélèvements d'air (phases gazeuse et particulaire) ont été réalisés sur 3 sites (New Brunswick, Liberty Science Center et Sandy Hook) à l'aide d'un échantillonneur à haut débit ($\sim 0,3 - 0,5 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1}$). Les composés ont été analysés par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). L'analyse a permis de séparer 11 pics chromatographiques correspondant à différents isomères de nonylphénol. Les concentrations rapportées dans le tableau 14 correspondent à la somme des différents isomères.

Rudel *et al.* ont conduit une étude dans 120 logements à Cape Code dans le Massachusetts aux Etats-Unis entre juin 1999 et septembre 2001 (Rudel *et al.*, 2003). L'objectif de cette étude était d'évaluer l'exposition domestique à un large spectre de composés organiques (89 substances) identifiés comme perturbateurs endocriniens et présents dans les produits de consommation et de construction. Les matrices échantillonnées étaient l'air intérieur et les poussières. Les logements éligibles concernaient des résidences de femmes atteintes d'un cancer du sein ou de témoins appariés sur l'âge, habitant depuis au moins 10 ans dans ce logement au moment de l'échantillonnage.

Les prélèvements d'air dans les habitations ont été réalisés sur 24 h (phase particulaire $< 5 \mu\text{m}$ et phase gazeuse) à l'aide d'échantillonneurs réglés à un débit constant de $8-9 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ et placés dans une des pièces les plus fréquentées.

Le mélange de 4-NP a ensuite été analysé par GC-MS. Les auteurs de l'étude ont indiqués avoir dosé les mélanges de 4-NP, davantage représentés par les isomères ramifiés. Cette étude a permis de doser ces isomères dans l'air intérieur de 100 % des logements et dans les poussières de 80 % des logements.

Suite à cette étude, en 2006, le même laboratoire a mené une autre campagne de mesure en Californie, dans une zone urbaine (Richmond) située à proximité d'une grande raffinerie de pétrole et dans une zone rurale (Bolinas) (Rudel *et al.*, 2010). Cette étude visait à évaluer

l'influence des facteurs géographiques et démographiques sur les concentrations en composés identifiés comme perturbateurs endocriniens. Contrairement à l'étude de 2003, Rudel *et al.* se sont consacrés dans cette étude à l'évaluation de l'exposition d'une population composée de minorités à faibles revenus, en excluant les fumeurs. Les prélèvements ont été effectués dans 50 maisons et 43 jardins attenants selon la même méthodologie (prélèvements et analyses, à l'exception de la phase particulaire < 7 µm) que dans l'étude précédente.

Le « 4-NP » (comme dans la première étude, les auteurs de l'étude ont indiqués avoir dosé les mélanges de 4-NP, davantage représentés par les isomères ramifiés) a été détecté dans 97 % des échantillons d'air intérieur et 14 % des échantillons d'air extérieur.

Berkner *et al.* ont développé et validé une méthode pour évaluer l'occurrence des alkylphénols (dont les nonylphénols) et le bisphénol A à l'état de trace dans l'atmosphère (Berkner *et al.*, 2004). L'étude a été conduite au Nord-Est de la Bavière en Allemagne sur 3 sites (l'un des sites est situé à proximité de la ville de Bayreuth) entre mai et novembre 2001. Les échantillons d'air dans la phase gazeuse ont été adsorbés sur des résines XAD2 (débit : 2 m³.h⁻¹ pendant 2 semaines). Les particules (dont la fraction granulométrique n'est pas précisée) ont été prélevés sur des filtres en fibre de verre (débit : 60 m³.h⁻¹). Les échantillons collectés ont ensuite été analysés par GC-MS précédée d'une étape de dérivation au BSTFA (N,O-bis-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide). Cette méthode analytique a permis de séparer 10 pics chromatographiques correspondant à un mélange de plus de 20 isomères de nonylphénol. De ce fait, les LD/LQ sont fournies pour chacun des 10 pics. Les concentrations en NP rapportées correspondent à la somme des différents pics.

Saito *et al.* ont mené une étude à Tokyo (Japon) entre juillet 2001 et mars 2002 (Saito *et al.*, 2004). L'objectif de cette étude était de développer une méthode analytique pour l'étude des alkylphénols (APs) dans l'air et d'investiguer la pollution de l'air par ces substances (APs de C4 à C9) dans les logements, bureaux et l'air extérieur. Plusieurs alkylphénols, dont le 4-nonylphénol (aucune précision sur l'isomère analysé), ont été mesurés dans l'air intérieur de 45 logements (individuels et collectifs) et 19 bâtiments à usage professionnel. Par ailleurs, 33 points extérieurs situés à proximité des logements et des bâtiments à usage professionnel ont également été investigués. Les particules (dont la fraction granulométrique n'est pas précisée) ont été collectés sur des filtres en fibres de quartz (étape 1) et la phase gazeuse sur des disques SPE (Solid Phase Extraction) (étape 2) par prélèvement actif (débit 10 L.min⁻¹) pendant 24 heures, extraits par ultrasonication en présence d'acétone, puis analysés par GC-MS (précédée d'une étape de dérivation au BSTFA¹⁰).

Inoue *et al.* ont développé une méthode d'analyse pour déterminer les concentrations en Bisphénol A, 4tOP, 4-nonylphénol (isomères non précisés), tetrabromobisphénol A et pentachlorophénol dans l'air intérieur à Kankawa et Tokyo (Japon) (Inoue *et al.*, 2006). Les auteurs ont investigué 26 points de prélèvement dans l'air intérieur d'une maison et du centre de recherche à Kanakawa ainsi qu'un appartement et l'université situés à Tokyo. Les prélèvements d'air ont été effectués de mars à mai 2003, à l'aide d'une pompe (débit 7L.min⁻¹) pendant 24 heures. Les composés ont été analysés par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS). Les résultats de l'étude ne permettent pas de distinguer les microenvironnements (concentrations poolées).

Xie *et al.* ont développé une méthode d'analyse par GC-MS pour déterminer simultanément la présence d'alkylphénols et de phtalates à l'état de trace dans l'atmosphère (Xie *et al.*, 2006). Afin de tester cette méthode, les auteurs ont mesuré les concentrations en nonylphénol dans l'air ambiant sur un site terrestre (centre de recherche) et sur un site

¹⁰ BSTFA : N,O-bis-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide. La dérivation est une technique qui permet l'analyse de composés qui ne peuvent pas être directement analysés en chromatographie gazeuse.

maritime (à bord d'un navire sur la Mer du Nord) en Allemagne. Les échantillons d'air dans les phases gazeuse et particulaire ont été prélevés à l'aide d'un échantillonneur d'air haut débit ($200 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$) puis analysé par GC-MS (précédée d'une étape de dérivation). L'analyse a permis de séparer 15 pics chromatographiques correspondant à différents isomères de nonylphénol. 13 pics ont été retenus pour la quantification des nonylphénols. Les auteurs notent que ces pics correspondent à un mélange d'isomère et non à un isomère sous forme pure.

Kanazawa *et al.*, 2010 ont mené une étude à Sapporo (Japon) en 2006-2007 dans l'objectif d'évaluer les déterminants d'exposition des personnes décrivant un « syndrome du bâtiment malsain » (SBM ou « Sick Building Syndrome » SBS). Plusieurs composés appartenant à la famille des SVOCs, dont le 4-NP (les auteurs indiquent avoir dosé le 4-NP linéaire, identifié par son numéro CAS), ont été prélevés dans l'air et les poussières (sols et différentes surfaces telles que les étagères, les placards...) de 41 logements. Dans l'air, les SVOCs ont été échantillonnés par prélèvement actif sur une période de 48h selon la même méthodologie que celle décrite dans l'étude de Saito *et al.* (2004).

Enfin, Salapasidou *et al.* 2011 ont étudié la présence de différents composés perturbateurs endocriniens dont le 4-NP (isomère non précisé) dans l'air ambiant de la ville de Thessaloniki (ville située au nord de la Grèce, densément peuplée > 1 000 000 habitants). Les auteurs ont prélevé des particules (PM_{10}) sur un site de trafic urbain et sur un site industriel, de janvier à février 2007. Ces prélèvements ont été réalisés à l'aide d'un échantillonneur d'air à faible débit pendant 24 heures (selon la norme EN 12341). Les particules ont été collectées sur un filtre de quartz puis analysées par GC-MS. Les auteurs ont également estimé la répartition de chaque composé étudié entre la phase gazeuse et la phase particulaire à partir de modèles basés sur leurs propriétés physico-chimiques.

6.1.1 Concentrations dans l'air intérieur de logements

Dans le tableau 13 sont résumées les concentrations en 4-NP relevées dans la littérature dans l'air intérieur des logements.

Tableau 13 : Concentrations en 4-NP relevées dans l'air intérieur

Références	Méthode analytique	LD ou MDL ¹¹ ou MRL ¹² (ng.m ⁻³)	% > LD	Min (ng.m ⁻³)	Max (ng.m ⁻³)	Médiane (ng.m ⁻³)	Autres données (ng.m ⁻³)
Rudel <i>et al.</i> , 2003 Massachussets (USA) N = 120	Prélèvement actif, désorption chimique, analyse GC-MS	3	100	21	420	110	75 th = 170 90 th = 230
Rudel <i>et al.</i> , 2010 Californie (USA) N = 31	Prélèvement actif, désorption chimique, analyse GC-MS	10	97	< LD	89	53	95 th = 86
Saito <i>et al.</i> , 2004 Tokyo (Japon) N = 90 (2 mesures dans 45 logements)	Prélèvement actif, désorption chimique, analyse GC-MS	4,5	98	< LD	680	47,5	-

¹¹ La MDL (Limite de détection de la méthode) est la concentration minimale d'une substance qui, dans une matrice donnée et selon une méthode d'analyse spécifique, puisse être mesurée avec une confiance de 99% comme étant supérieure à 0.

La limite de Détection utilisée correspond à la MRL dans les études de Rudel (2003 et 2010)

Saito *et al.*, 2004 : la MDL est calculée à partir de la limite de quantification analytique et le volume d'air prélevé.

Kanasawa *et al.*, 2010 : La MDL est évaluée à partir de la limite de détection de l'instrument (quantité de composé produisant un signal 5 fois supérieur au niveau du bruit), de la surface du disque d'extraction et de la durée de prélèvement.

¹² La MRL (Method Reporting limit) est une valeur seuil établie par un laboratoire, au-delà de laquelle la mesure d'un composé est renseignée dans les résultats de l'analyse à un degré de justesse et de précision jugé satisfaisant dans le contexte de l'étude. L'estimation de la MRL tient compte de la sensibilité de la méthode employée et son calcul est ajusté en fonction des interférences exercées par la matrice échantillonnée et des étapes de préparation de l'échantillon (dilutions éventuelles). Elle est au minimum égale à la limite de détection de la méthode (MDL).

Rudel *et al.*, 2003 : la MRL de chaque composé est établie initialement comme la concentration la plus faible de l'étalon standard utilisé pour l'élaboration de la courbe d'étalonnage. Une MRL est reconsidérée si une substance interfère avec la mesure du composé d'intérêt ou si une dilution de l'échantillon est nécessaire. Si le composé d'intérêt est détecté dans les blancs d'études, la MRL est fixée à la moyenne plus 3 écarts types des concentrations mesurées dans les blancs.

Rudel *et al.*, 2010 : la MRL de chaque composé est fixée comme le maximum de la limite de détection analytique ou du 90th des concentrations mesurées dans les blancs.

Références	Méthode analytique	LD ou MDL ¹¹ ou MRL ¹² (ng.m ⁻³)	% > LD	Min (ng.m ⁻³)	Max (ng.m ⁻³)	Médiane (ng.m ⁻³)	Autres données (ng.m ⁻³)
Kanasawa <i>et al.</i> , 2010 Sapporo (Japon) N = 39	Prélèvement actif, désorption chimique, analyse GC-MS	57,3	12,8	< LD	194	< MDL	-
Inoue <i>et al.</i> , 2006 Japon 26 (points de prélèvement)	Prélèvement actif, désorption chimique, analyse, analyse LC-MS	NR	100	3,3	183,9	60,7	Moy = 97,6 (écart type = 90,1)

LD : Limite de Détection

L'incertitude sur la nature de l'isomère mesuré dans ces 5 études rend l'interprétation et la comparaison de leurs résultats difficile. Il apparaît néanmoins que les isomères du 4-NP sont fréquemment détectés dans les logements (Rudel *et al.* (2003, 2010) ; Saito *et al.*, 2004 ; Inoue *et al.*, 2006) (la fréquence de détection faible rapportée dans l'étude de Kanasawa *et al.* (2010) pourrait s'expliquer en partie par la limite de détection élevée du 4-NP).

D'autre part, la comparaison des concentrations mesurées dans les études de Rudel *et al.* (2003, 2010), réalisé selon la même méthodologie, indique une tendance à la baisse des niveaux de 4-NP dans les logements. Une hypothèse avancée dans l'étude de Rudel *et al.* (2010) à ce sujet serait l'évolution de la formulation des produits, contenant de moins en moins de nonylphénols.

6.1.2 Concentrations dans l'air extérieur

Dans le tableau 14 sont résumées les concentrations en 4-NP relevées dans la littérature dans l'air intérieur des logements.

Tableau 14 : Concentrations en 4-NP relevées dans l'air extérieur

	Méthode analytique	LD (ng.m ⁻³)	% > LD	Min (ng.m ⁻³)	Max (ng.m ⁻³)	Médiane (ng.m ⁻³)	Autres données (ng.m ⁻³)
<p>Van Ry <i>et al.</i>, 2000¹³(Van Ry <i>et al.</i>, 2000) USA 3 sites : -site 1 : N = 38 - site 2 : N = 23 - Site 3 : N = 27</p>	Prélèvement actif, désorption chimique, analyse GC-MS	Phase gazeuse = 1 ng ¹⁴ Phase particulaire = 4 ng ¹⁵	NR	<p>Site 1 : Phase gazeuse : <LD Phase particulaire:0,067 Site 2 : Phase gazeuse :<LD Phase particulaire: 0,23 Site 3 : Phase gazeuse : 0,13 Phase particulaire :0,020</p>	<p>Site 1 : Phase gazeuse :56 Phase particulaire : 51 Site 2 : Phase gazeuse :17 Phase particulaire:23 Site 3 : Phase gazeuse :81 Phase particulaire :6,4</p>	<p>Site 1 : NR Site 2 : NR Site 3 : NR</p>	<p>Moyenne Site 1 : Phase gazeuse :6,9 Phase particulaire :5,4 Site 2 : Phase gazeuse : 2,6 Phase particulaire:3,8 Site 3 : Phase gazeuse :13 Phase particulaire :0,55</p>
<p>Berkner <i>et al.</i>, 2004¹⁶ Allemagne 3 sites : - clairière N = 3 - forêt : N = 3 - à proximité de la</p>	Prélèvement actif, désorption chimique, analyse GC-MS	Phase gazeuse : 2 à 14 pg Phase particulaire : 1 à 5 pg	NR	Phase gazeuse : 0,15 Phase particulaire : 1,7	Phase gazeuse : 1,0 Phase particulaire : 117	NR	NR

¹³ Somme des isomères¹⁴ Volume prélevé non précisé dans l'article¹⁵ Volume prélevé non précisé dans l'article¹⁶ Somme des isomères

	Méthode analytique	LD (ng.m ⁻³)	% > LD	Min (ng.m ⁻³)	Max (ng.m ⁻³)	Médiane (ng.m ⁻³)	Autres données (ng.m ⁻³)
ville de Bayreuth : N = 2							
Saito <i>et al.</i> , 2004 Tokyo (Japon) N = 33	Prélèvement actif, désorption chimique, analyse GC-MS	LD = 4,5	42	< LD	53,1	< LD	-
Xie <i>et al.</i> , 2006 ¹⁷ Allemagne 2 sites : -site 1 : centre de recherche N = 6 -site 2 : mer du Nord N = 10	Prélèvement actif, désorption chimique, analyse GC-MS	Phase gazeuse : 0,008 Phase particulaire : 0,005	NR	Site 1 : Phase gazeuse = 0,055 Phase particulaire = 0,010 Site 2 : Phase gazeuse = 0,029 Phase particulaire = 0,005	Site 1 : Phase gazeuse = 0,42 Phase particulaire = 0,12 Site 2 : Phase gazeuse = 0,11 Phase particulaire = 0,017	NR	Moyenne Site 1 : Phase gazeuse = 0,22 Phase particulaire = 0,040 Site 2 : Phase gazeuse = 0,056 Phase particulaire = 0,010
Rudel <i>et al.</i> , 2010 Californie (USA) N = 29	Prélèvement actif, désorption chimique, analyse GC-MS	LD= 10	14	< LD	40	< LD	95 th = 34

¹⁷ Somme des isomères

	Méthode analytique	LD (ng.m⁻³)	% > LD	Min (ng.m⁻³)	Max (ng.m⁻³)	Médiane (ng.m⁻³)	Autres données (ng.m⁻³)
Salapavidou <i>et al.</i> , 2011 Grèce 2 Sites	Prélèvements actifs (PM10), désorption chimique, analyse par GC-MS	NR	100	PM ₁₀ Site trafic : 1,60 Site industriel : 2,5	PM ₁₀ Site trafic : 16,5 Site industriel : 10,9	PM ₁₀ Site trafic : 3,82 Site industriel : 4,19	PM ₁₀ Site trafic : moy = 5,12 +/-4,43 Site industriel : moy = 4,96 +/- 2,75

Les concentrations mesurées dans l'air extérieur sont globalement plus faibles que celles mesurées à l'intérieur des logements. D'après les études de Berkner *et al.*, 2004 et de Xie *et al.*, 2006, les nonylphénols sont davantage retrouvés dans la phase gazeuse de l'air. Les résultats de l'étude de Van Ry *et al.*, 2000 ne permettent pas de conclure sur ce point.

6.2 Données sur les poussières sédimentées

Quatre études présentant des résultats de mesures dans les poussières intérieures des logements ont été identifiées dans la littérature (Butte *et al.*, 2001 ; Rudel *et al.*, 2003 ; Greenpeace , 2003 ; Kanazawa *et al.*, 2010). L'étude réalisée par Greenpeace présente des résultats de mesures en France.

Butte *et al.*, (2001) ont évalué la contamination des poussières domestiques par plusieurs substances dites « PE », dont des alkylphénols (les isomères de nonylphénol analysés ne sont pas précisés). Les échantillons de poussières domestiques ont été prélevés dans le cadre d'une étude sur la leucémie et le lymphome dans le Nord de l'Allemagne en 1998 et 1999. L'échantillonnage concernait 286 logements situés dans des zones rurales, moyennement ou faiblement peuplées. Les prélèvements ont été réalisés par les participants à l'aide d'aspirateurs ménagers disponibles dans leur logement sur une période d'au moins quatre semaines. Les caractéristiques des logements ont été détaillées par les participants. L'intégralité du contenu d'un sac d'aspirateur a été filtrée au travers d'un tamis à mailles de 2 mm. Un aliquote de la "fraction $\leq 2\text{-mm}$ " de la poussière a ensuite été filtré au travers d'un tamis à mailles de 63 μm . Cinq extraits de poussières ont été préparés. L'échantillon utilisé pour mesurer les concentrations des alkylphénols dans les poussières a été analysé par chromatographie en phase gazeuse avec colonne capillaire et détecteur à capture d'électrons (GC-ECD).

Dans l'étude de Rudel *et al.* (2003), l'échantillonnage des poussières a été réalisé après la fin des prélèvements d'air, au sol (parquets en bois, tapis, moquette) ainsi que sur les meubles, les bords de fenêtres, les ventilateurs de plafond et les tissus d'ameublement, dans les pièces les plus fréquentées de la maison (4-5 pièces par logement), y compris les chambres et les couloirs, avec un aspirateur équipé d'un embout dédié pour éviter toute contamination. Environ 4 g de poussières ont été recueillis par échantillon pour une durée de prélèvement de 45-90 min. Après le tamisage des poussières, la fraction inférieure à 150 μm a été analysée par GC-MS.

Greenpeace a réalisé en 2003 une campagne de mesure dans les poussières déposées dans les logements dans 5 pays (Allemagne, Espagne, Slovaquie, Italie, France) (Greenpeace, 2003). Cinq familles de substances chimiques ont été recherchées : des retardateurs de flamme bromés, des organoétains, des phtalates, des paraffines chlorées et des alkylphénols, parmi lesquels le 4-nonylphénol. Cette étude présente également les résultats d'une autre campagne de mesures réalisées par Greenpeace au Royaume Uni et ayant recherché les mêmes familles de substances. Les prélèvements de poussières ont été réalisés à l'aide du même aspirateur dans chaque pays, dans une pièce au minimum selon la quantité de poussières présentes, par un employé ou un bénévole de Greenpeace. Les poussières ont ensuite été tamisées (2 mm) et les nonylphénols ont été extraits à l'aide du dichlorométhane. Les extraits ont ensuite été analysés par GC-MS. Au total, 94 échantillons de poussières ont été analysés.

Dans l'étude de Kanazawa *et al.* (2010), les poussières ont été prélevées par aspiration avec du matériel dédié à la campagne de mesure. Aucune information sur le nombre de prélèvement ou la quantité de poussières prélevées n'est disponible. Il n'est pas indiqué si les poussières ont ensuite été tamisée, les auteurs indiquent seulement avoir éliminer les contaminants macroscopiques (aliments, cheveux). Les composés ont ensuite été extraits par ultrasons à partir d'un échantillon de 20 à 25 mg de poussières auquel a été ajouté 1 mL

d'acétone. Les extraits ont ensuite été analysés par GC-MS. Le 4-NP a été mesuré dans 73,1 et 76,1% des échantillons de poussières du sol et des autres surfaces (meubles...).

Le tableau 15 ci-dessous présente les concentrations relevées dans les études.

Tableau 15 : Concentrations en 4-NP dans les poussières

	Méthode analytique	LD ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	% > LD		Min ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		Max ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		Médiane ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		Autres données ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
Butte <i>et al.</i> , 2001 Allemagne N = 286	Récupération du sac domestique Fraction de tamisage : 63 μm Désorption chimique, analyse par GC-ECD	NR	NR		NR		NR		NR		P95 = 18 (IC ₉₅ : 14 – 25)
Rudel <i>et al.</i> , 2003 Massachusetts (USA) N = 118	Aspiration dédiée Fraction de tamisage : 150 μm Désorption chimique, analyse GC-MS	1	80		< LD		8,68		2,58		75 th = 3,95 90 th = 5,63
Greenpeace (2003) Allemagne (S1 , N = 5), Espagne (S2 , N = 22), France (S3 , N = 31), Italie (S4 , N = 5), Slovaquie (S5 , N = 2), Royaume-Unis ¹⁸ (S6 , N = 29)	Aspiration Fraction de tamisage : 200 μm Désorption chimique, analyse GC-MS	0,1	S1	0	S1	<LD	S1	<LD	S1	<LD	NR
			S2	23	S2	<LD	S2	4,5	S2	<LD	
			S3	3	S3	<LD	S3	3,4	S3	<LD	
			S4	20	S4	<LD	S4	0,22	S4	<LD	
			S5	100	S5	1,3	S5	2,5	S5	NR	
			S6	76	S6	<LD	S6	35,2	S6	9,8	

¹⁸ Précédente étude : Santillo, D., Labunska, I., Davidson, H., Johnston, P., Strutt, M. & Knowles, O. (2003) Consuming chemicals: hazardous chemicals in housedust as an indicator of chemical exposure in the home. Greenpeace Research Laboratories Technical Note 02/2003, May 2003: 71 pp.

	Méthode analytique	LD ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	% > LD	Min ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Max ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Médiane ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Autres données ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
Kanazawa <i>et al.</i> , 2010 Sapporo (Japon) Sols N = 40 Surfaces diverses N = 40	Aspiration dédiée, Fraction de tamisage inconnue	2,2	73,1	< LD	42,3	3,1	-
	Désorption chimique, analyse GC-MS	2,2	76,1	< LD	36,2	4,3	-

NR : Non renseigné

La fréquence de détection du 4-nonylphénol dans les poussières varie considérablement d'une étude à l'autre. En France, le 4-nonylphénol a été détecté dans 3 % des échantillons. En revanche, l'ordre de grandeur des concentrations mesurées dans les logements est sensiblement le même d'une étude à l'autre. Les plus fortes concentrations ont été mesurées au Japon (max = 42,3 $\mu\text{g.g}^{-1}$) (Kanazawa *et al.*, 2010).

Dans l'étude de Kanazawa *et al.* (2010), il est montré que les concentrations de 4-NP dans les poussières intérieures du sol sont significativement corrélées avec les concentrations mesurées dans les poussières des surfaces diverses ($r = 0,44$; $P < 0,01$). Dans l'étude de Greenpeace, les auteurs notent que contrairement à la précédente étude réalisée au Royaume Uni, le 4-nonylphénol n'a été que rarement détecté, à des concentrations plus faibles. Les auteurs citent les textiles comme source potentielle d'exposition au 4-nonylphénol dans les environnements intérieurs.

Les données de la littérature ont été mises à jour sur la période 2010 – 2014. Trois études présentant des données dans l'air extérieur, l'air intérieur et les poussières ont été identifiées. Les deux premières études ont été réalisées dans le cadre de développement ou d'optimisation de méthodes analytiques.

Lu *et al.*, 2013 ont réalisés des mesures de phénols dans les poussières de logements en Chine dans le cadre du développement d'une méthode analytique par UHPLC-MS/MS (chromatographie liquide ultra haute performance) permettant de quantifier simultanément 5 phénols (BPA, triclosan, 4-tert-octylphénol, 4-n-octylphénol, 4-n-nonylphénol) dans les poussières. Cette méthode a été testée sur 47 échantillons de poussières prélevés dans des logements en zone urbaine, à l'aide d'un aspirateur dédié. Les poussières ont ensuite été tamisée à 150 μm et les phénols ont été extraits à l'aide d'acétone. L'extrait a ensuite été analysé par UHPLC-MS/MS. Les auteurs indiquent avoir mesuré spécifiquement le 4-NP linéaire, identifié par son n°CAS (104-40-5). La fréquence de détection du 4-NP dans les logements était de 51 %. La concentration médiane est égale à 3 ng.g^{-1} (Min < LD ; max = 9 ng.g^{-1}), ce qui est inférieur aux concentrations rapportées dans les autres études (Butte *et al.*, 2001 ; Rudel *et al.*, 2003 ; Kanazawa *et al.*, 2010)

Salgueiro-Gonzalez *et al.*, (2013) ont mesuré 13 substances suspectées perturbatrices endocriniennes dans la phase particulaire de l'atmosphère en Espagne. Ces mesures ont été réalisées dans le cadre de l'optimisation d'une méthode d'extraction par solvant pressurisée et analyse par LC-MS/MS. Huit échantillons d'air (fraction particulaire $\text{PM}_{2,5}$ uniquement) ont été prélevés à l'aide d'un échantillonneur à haut débit (30 $\text{m}^3.\text{h}^{-1}$) pendant 24h dans des zones industrielles, urbaines et suburbaines (supposées non polluées). Les auteurs indiquent avoir mesuré spécifiquement le 4-NP linéaire et le mélange de nonylphénols. Le 4-NP linéaire n'a été détecté dans aucun échantillon. Le mélange de nonylphénols a été détecté dans 100 % des échantillons, à des concentrations variant de 252 à 760 pg.m^{-3} .

La troisième étude recensée avait pour objectif de caractériser l'évolution des concentrations en COSV dans l'air ambiant selon le type de milieu et la saison (Moreau-Guigon et Chevreuil, 2014). Les prélèvements d'air ont été réalisés en milieu urbain (Paris), en banlieue parisienne (Lognes) et en région parisienne (Fontainebleau). Des prélèvements dans l'air intérieur ont également été réalisés dans un logement, une crèche et un bureau pour évaluer la variabilité de l'exposition par inhalation en centre urbain. Dans l'air extérieur, les premiers résultats de cette étude indiquent que les nonylphénols ont été détectés dans l'ensemble des échantillons, à des concentrations de l'ordre du ng.m^{-3} , tous sites confondus. Dans l'air intérieur, les nonylphénols ont également été détectés dans l'ensemble des échantillons. Les concentrations mesurées sont supérieures à celles mesurées à l'extérieur. Elles sont de l'ordre de 100 ng.m^{-3} dans la crèche. Enfin, il ressort également de cette étude que les nonylphénols sont davantage mesurés en phase gazeuse (> 90 %, air extérieur et

intérieur). D'autres publications de cette étude présentant le détail des résultats dans l'air extérieur et intérieur sont en cours.

6.3 Discussion sur les données d'exposition

L'évaluation de l'exposition au 4-nonylphénol linéaire via l'air intérieur/extérieur et les poussières présente des incertitudes liées :

- Aux difficultés de séparation chromatographique des différents isomères de nonylphénols. Les données recensées dans la littérature concernent les mélanges de nonylphénols ou les mélanges de 4-nonylphénols et non spécifiquement le 4-nonylphénol linéaire.
- A l'origine géographique et à l'antériorité des études par rapport aux mesures réglementaires mises en place en Europe depuis janvier 2005. En effet, la plupart des études recensées ont soit été réalisées aux USA et au Japon, où l'utilisation des nonylphénols dans les produits de consommation n'est ou n'était pas réglementée, soit été réalisées en Europe avant la mise en place de la restriction à 0,1 % pour plusieurs usages.

Néanmoins, trois études récentes, réalisées en Grèce (Salapasidou *et al.*, 2011), en Espagne (Salgueiro-Gonzalez *et al.*, 2013) et en France (Moreau-Guigon et Chevreuil, 2014), indiquent que les nonylphénols ont été détectés dans l'ensemble des prélèvements d'air extérieur, à des concentrations de l'ordre du ng.m^{-3} . Les premiers résultats de l'étude de Moreau-Guigon et Chevreuil, 2014 montrent également que les nonylphénols ont été retrouvés dans l'air d'une crèche, d'un logement et d'un bureau, à des concentrations supérieures à celles mesurées à l'extérieur. Ces données indiquent que les environnements intérieurs et extérieurs constituent toujours une source d'exposition aux nonylphénols, malgré les restrictions d'emploi de ces composés depuis plusieurs années.

7 Discussions et conclusions

Aucune information relative à l'emploi du 4-nonylphénol linéaire sous forme isolée n'est disponible dans la bibliographie. Les données disponibles indiquent que cet isomère entre dans la composition des mélanges de nonylphénols à chaînes linéaires (*A priori* moins utilisés que les mélanges ramifiés en industrie). Ces mélanges, désignés sous le terme générique de « nonylphénols » ne sont pas incorporés directement dans les formulations. Ils sont utilisés comme intermédiaires dans la synthèse de NPEs, de résines formo-phénoliques, de résines époxy et de TNPP, aux utilisations industrielles diverses.

En ce qui concerne les produits fabriqués à partir des résines et du TNPP (colles, peintures, vernis, matières plastiques), il n'est pas exclu que du nonylphénol libre n'ayant pas réagi (et par conséquent du 4-NP linéaire) soit libéré au cours de leur utilisation. Cependant, en l'absence de données pertinentes relatives aux concentrations en 4-NP résiduel dans ces produits, il est impossible d'évaluer l'exposition liée à leur emploi.

Les produits synthétisés à partir de NPEs peuvent également contenir de faibles quantités de nonylphénol n'ayant pas réagi.

L'utilisation des nonylphénols et des NPEs est très réglementée au niveau européen et a fait l'objet de mesures restrictives dès 2005 (inscription en annexe I de la directive 2003/53/CE puis en annexe XVII du règlement REACH), limitant leur concentration à 0,1 % pour les utilisations suivantes :

- nettoyeurs industriels et domestiques,
- traitement des textiles et du cuir,
- industrie du papier et carton,
- cosmétiques et autres produits d'hygiène,
- formulants ou coformulants de pesticides et biocides,
- émulsifiants de produits agricoles,
- produits pour l'usinage des métaux.

La recherche bibliographique, l'enquête de filière et l'extraction des bases de données n'ont pas permis d'identifier d'autres produits synthétisés à partir de NPEs non couverts par cette réglementation, à l'exception des textiles (produits finis) dans lesquels des concentrations en NPEs variant de 1 (limite de détection) à 1100 mg.kg⁻¹ ont été détectées (textiles importés). Le groupe de travail attire donc l'attention sur cette voie d'exposition potentielle. Des mesures de gestion permettant de couvrir cette voie d'exposition sont d'ores et déjà mises en œuvre, avec le dépôt en juillet 2013, auprès de l'ECHA, d'un dossier de restriction des nonylphénols et des NPEs dans les textiles par l'agence suédoise des produits chimiques (KEMI).

A noter également que les nonylphénols ont été inscrits sur la liste des substances candidates à l'annexe XIV pour les procédures d'autorisation. Ce dispositif vise à ce que chaque utilisation de certaines substances parmi les plus préoccupantes pour la santé et l'environnement soit soumise à une autorisation afin de permettre son contrôle strict. A terme, une fois qu'une substance est incluse à l'annexe XIV, elle ne peut plus être fabriquée/importée/utilisée sans autorisation de la commission européenne.

Au vu de ces éléments, il ne sera pas réalisé d'évaluation quantitative de l'exposition du grand public liée à l'utilisation de produits de consommation contenant du 4-nonylphénol linéaire ou des mélanges de nonylphénols selon l'approche décrite dans le rapport « méthode d'évaluation des risques sanitaires liés à la présence de substances reprotoxiques et/ou perturbatrices endocriniennes dans les produits de consommation » (Anses, 2014).

Date de validation du rapport d'expertise collective par le groupe de travail et par le comité d'experts spécialisé: 7 février 2012.

8 Références bibliographiques

Anses (2014) Méthode d'évaluation des risques sanitaires liés à la présence de substances perturbatrices endocriniennes et/ou reprotoxiques dans les produits de consommation. Rapport d'expertise collective, Maisons-Alfort.

Ashford* (2001) Ashford's Dictionary of Industrial Chemicals - 2nd edition. p 806.

Berkner S, Streck G, Herrmann R (2004) Development and validation of a method for determination of trace levels of alkylphenols and bisphenol A in atmospheric samples. *Chemosphere* **54**, 575-584.

BKH (2002). European Commission DG ENV. Endocrine Disruptors : study on gathering information on 435 substances with insufficient data [rapport en ligne]. En ligne : <http://ec.europa.eu/environment>

Butte W, Hoffmann W, Hostrup O, Schmidt A, Walker G (2001) Endokrin wirksame Substanzen im Hausstaub: Ergebnisse eines repräsentativen Monitorings: Herrn Prof. Dr. P. Köll zum 60. Geburtstag gewidmet. *Gefahrstoffe Reinhaltung der Luft* **61**, 19-23.

CE* (Commission Européenne) (2001) Recommandation de la commission du 7 novembre 2001 sur les résultats de l'évaluation des risques et sur les stratégies de réduction des risques pour les substances acryaldéhyde, sulfate de diméthyle, nonylphénol, phénol ramifié, nonyl-4, oxyde de tert-butyle et de méthyle (JOCE n° L319/30 du 4 décembre 2001).

CE* (Commission Européenne) (2010). Summary report on exports of chemicals listed in Annex I of Regulation (EC) 689/2008 (chemicals subject to export notification in accordance with Article 9 of the regulation). Rapports annuels de 2004 à 2008 [rapports en ligne]. En ligne : <http://edexim.jrc.ec.europa.eu> .

DHI (2007) Study on enhancing the Endocrine Disrupter priority list with a focus on low production volume chemicals [rapport en ligne].

Directive 67/548/CEE du 27 juin 1967 concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses (JOCE L196 du 16 août 1967).

Dodson RE, Nishioka M, Standley LJ, Perovich LJ, Green Brody J, Rudel RA (2012) Endocrine disruptors and asthma-associated chemicals in consumer products. *Environmental Health perspectives* 1-41.

Greenpeace* (2000). Concentrations of Phthalate esters and identification of other additives in PVC children's toys. *Environ. Sci. & Pollut. Res.* 7.

Greenpeace (2003) Consommation toxique. Les substances dangereuses dans les poussières du logement : des indicateurs de l'exposition chimique dans l'environnement domestique.

Greenpeace (2011). Dirty laundry 2 : hung out to dry. Unravelling the toxic trail from pipes to products [rapport en ligne]. En ligne : <http://www.greenpeace.org/international/en/publications/reports/Dirty-Laundry-2/> .

Greenpeace (2012). Toxic threads: the big fashion stitch-up. En ligne : <http://www.greenpeace.org/luxembourg/Global/luxembourg/image/2012/FashionVictim2012/ToxicThreads01.pdf> , 1-56..

HSDB* (Hazardous Substances Data Base) (2010). US National Library of Medicine - TOXNET Database [base de données en ligne]. En ligne : <http://toxnet.nlm.nih.gov>.

Ineris* (Institut national de l'environnement industriel et des risques) (2005). Données technico-économiques sur les substances chimiques en France. Nonylphénols et éthoxylates [rapport en ligne]. En ligne : <http://rsde.ineris.fr> . 2005.

Ineris* (Institut national de l'environnement industriel et des risques) (2008). Les substances dangereuses pour le milieu aquatique dans les rejets industriels et urbains. Bilan de l'action nationale de recherche et de réduction des rejets de substances dangereuses dans l'eau par les installations classées et autres installations [rapport en ligne]. En ligne : <http://rsde.ineris.fr> .

Inoue K, Yoshida S, Nakayama S, Ito R, Okanouchi N, Nakazawa H (2006) Development of stable isotope dilution quantification liquid chromatography-mass spectrometry method for estimation of exposure levels of bisphenol A, 4-tert-octylphenol, 4-nonylphenol, tetrabromobisphenol A, and pentachlorophenol in indoor air. *Arch Environ Contam Toxicol*. **51**, 503-508.

INRS* (Institut national de recherche et de sécurité) (2006). Fiche toxicologique du nonylphénol et 4-nonylphénol ramifié (FT 249) [base de données en ligne]. En ligne : <http://www.inrs.fr> .

Kanazawa A, Saito I, Araki A, Takeda M, Ma M, Saijo Y, Kishi R (2010) Association between indoor exposure to semi-volatile organic compounds and building-related symptoms among the occupants of residential dwellings. *Indoor air* **20**, 72-84.

Kirk R, Othmer* D (2007) 'Encyclopedia of Chemical Technology. Vol. n° 2. 5th edition. Wiley-Interscience.'

Loyo-Rosales*, JE., Rosales-Riviera, GC., Lynch, AM., Rice, CP., et Torrents, A. Migration of nonylphénol from plastic containers to water and a milk surrogate. *J. Agric. Food Chem.* **52**, 2016-2020. 2004.

Liao C, Kannan K (2014) A survey of alkylphenols, bisphenols, and triclosan in personal care products from China and the United States. *Arch Environ Contam Toxicol* **67**, 50-59.

Lu X, Chen M, Zhang X, Sun Y, Zhu D, Zhang Q, Wang B, Zhang Z (2013) Simultaneous quantification of five phenols in settled house dust using ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Methods* **5**, 5339-5344.

OCDE (2009) The 2007 OECD list of High Production Volume chemicals [rapport en ligne]. En ligne : <http://www.oecd.org> . 2009.

Règlement (CE) n°1272/2008 ou règlement CLP du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) no 1907/2006 (JOUE L353 du 31 décembre 2008).

Règlement (CE) n°689/2008 du 17 juin 2008 concernant les exportations et importations de produits chimiques dangereux (JOUE L204/1 du 31 juillet 2009).

Règlement REACH (CE) n° 1907/2006 du 18 décembre 2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances (REACH), instituant une agence européenne des produits chimiques, modifiant la directive 1999/45/CE et abrogeant le règlement (CEE) no 793/93 du Conseil et le règlement (CE) no 1488/94 de la Commission ainsi que la directive 76/769/CEE du Conseil et les directives 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE et 2000/21/CE de la Commission (JOUE L396 du 30 décembre 2006).

Règlement CE n° 1223/2009 du 30 novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques (JOUE L342/59 du 22 décembre 2009). 2011.

Rudel, RA, Camann, DE, Spengler, JD, Korn, LR, et Brody, JG (2003) Phthalates, alkylphenols, pesticides, polybrominated diphenyl ethers, and other endocrine-disrupting compounds in indoor air and dust. *Environ. Sci. Technol.* 20, 4543-4553.

Rudel, RA, Dodson, RE, Perovitch, LJ, Morello-Frosch, R, Caman, DE, Zuniga, MM, Yau, AY, Just, AC, et Brody, JG (2010) Semivolatile endocrine-disrupting compounds in paired indoor and outdoor air in two northern California communities. *Environ. Sci. Technol.* 17, 6583-6590.

Saito I, Onuki A, Seto H (2004) Indoor air pollution by alkylphenols in Tokyo. *Indoor Air.* 14, 325-332.

Salapatsidou M, Samara C, Voutsas D (2011) Endocrine disrupting compounds in the atmosphere of the urban area of Thessaloniki, Greece. *Atmospheric Environment* 45, 3720-3729.

Salgueiro-Gonzalez N, Lopez de Alda M, Muniategui-Lorenzo S, Prada-Rodriguez D, Barcelo D (2013) Determination of 13 estrogenic endocrine disrupting compounds in atmospheric particulate matter by pressurised liquid extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 405, 8913-8923.

UE* (Union européenne) (2002) European Union Risk Assessment Report. 4-nonylphenol (branched) and nonylphenol.

ANNEXES

Annexe 1 : Récapitulatif des usages et des articles et mélanges susceptibles de contenir du 4-NP

Les catégories d'article et de mélange, citées ci-dessous, sont établies selon des nomenclatures existantes. Elles peuvent couvrir une liste de produits plus large que ceux concernés par le 4-NP.

Utilisation	Catégorie d'article ou de mélange susceptible de contenir le 4-NP
Utilisation des éthoxylates de nonylphénol synthétisés à partir de nonylphénols	
Fabrication de papiers	Papier
Tannerie – traitement du cuir	Cuir et peau
Industrie du textile - traitement des textiles	Textile
Industrie de la construction – traitement du bois et des métaux – autres matériaux de construction	Bois/métaux Béton-ciment-sable-bitume
Formulation des produits phytosanitaires	- Insecticides - Herbicides - Fongicides - Bactéricides
Formulation des produits cosmétiques	- Savons - Shampoings
Formulation des peintures	Peinture
Produits utilisés dans le développement des films photographiques	- Bain d'arrêt photographique - Fixateur photographique - Révélateur photographique
Formulation des engrais	Engrais et composés azotés
Industrie du plastique	- Emballages en matières plastiques - Vêtements et accessoires de l'habillement (y compris gants) en matières plastiques - Autres produits en matières plastiques n.c.a. - jouets
Formulation des produits ménagers	Nettoyant ménager
Utilisation des résines formophénoliques synthétisées à partir de nonylphénols	
Fabrication d'encres d'impression	Encre imprimante personnelle Encre professionnelle
Utilisation de colles ou d'adhésifs	Colle / adhésif
Fabrication de papiers	Papier
Utilisation de vernis	Vernis
Utilisation des résines époxy synthétisées à partir de nonylphénols	
Fabrication d'encres d'impression	Encre imprimante personnelle Encre professionnelle
Utilisation de colles ou d'adhésifs	Colle / adhésif
Utilisation de vernis	Vernis
Formulation des peintures	Peinture
Utilisation du TNPP synthétisé à partir de nonylphénol	
Industrie du plastique	- Emballages en matières plastiques - Vêtements et accessoires de l'habillement (y compris gants) en matières plastiques - Autres produits en matières plastiques n.c.a. - jouets

Annexe 2 : Liste des fédérations contactées pour l'enquête sur les perturbateurs endocriniens

AIMCC : Association des industries de produits de construction
ALUTEC : Association lunetière technologique
APST-BTP-RP Santé au travail
Association syndicale professionnelle minéraux industriels
ATILH : Association technique de l'industrie les liants hydrauliques
Centre technique du cuir
Chambre syndicale des fabricants de sacs en papier
CICF : Confédération des industries céramiques et France
Cimbéton
COMIDENT : Comité de coordination des activités dentaires
COPACEL : Confédération française de fabricants de papiers, cartons
CTICM : Centre technique industriel de la construction
CTIF : Centre technique des industries de la fonderie
CTP : Centre technique du papier
CTTN-IREN : Centre technique de la teinture et du nettoyage – Institut de recherche sur l'entretien et le nettoyage
Elipso : Les entreprises de l'emballage plastique et souple
FCBA : Institut technologique bois
Fédération de l'horlogerie
Fédération de la plasturgie
Fédération des chambres syndicales de l'industrie du verre
Fédération française des industries du jouet et de la puériculture
Fédération française du bâtiment
Fédération française du cartonnage
FFC : Fédération française de la chaussure
FICG : Fédération de l'imprimerie et de la communication graphique
FIEEC : Fédération des industries électriques, électroniques et communication
FIEV : Fédération des industries des équipements pour véhicules
FIF : Fédération des industries ferroviaires
FIPEC : Fédération des peintures, encres, couleurs, colles et adhésifs
GESIM : Groupement des entreprises sidérurgiques et métallurgiques
GIFAS : Groupement des industries françaises aéronautiques et spatiales
GIFO : Groupement des industriels et fabricants de l'optique
IFTH : Institut français du textile et de l'habillement
Institut du verre
ONDEF : Organisation professionnelle des fabricants d'emballage en carton ondulé de France
PlasticsEurope
PROCELPAC - Association club MCAS « Matériaux pour contact alimentaire et santé » :
Filière papier- carton
SCMF : Syndicat de la construction métallique de France
SFIC : Syndicat français de l'industrie cimentière
SFP : Société française des parfumeurs
SFTAS : Syndicat français des textiles artificiels et synthétiques
SNFBM : Syndicat national des fabricants de boîtes, emballages et bouchages métalliques
SNFORES : Syndicat national des formulateurs de résines synthétiques
SNITEM : Syndicat national de l'industrie des technologies médicales
Syndicat national du caoutchouc et des polymères
UCAPLAST : Union des syndicats des PME du caoutchouc et de la plasturgie
UFIP : Union française des industries pétrolières
UIB : Union des industries du bois

UIC : Union des industries chimiques

UIMM : Union des industries et métiers de la métallurgie

UIPP : Union des industries des panneaux de process

UIT : Union des industries textiles

UNFEA : Union nationale des fabricants d'étiquettes adhésives

UNIFA : Union nationale des industries françaises de l'ameublement

UNIPAS : Union des industries papetières pour les affaires sociales

Reference List

Van Ry DA, Dachs J, Gigliotti CL, Brunciak PA, Nelson ED, Eisenreich SJ (2000)
Atmospheric seasonal trends and environmental fate of alkylphenols in the Lower
Hudson River estuary. *Environmental science & technology* 34, 2410-2417.



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