

→ R. Gaudin, P. Ducos, J.M. Francin, P. Marsan, A. Robert, Département Polluants et santé, T. Nicot, Département Ingénierie des procédés ;  
C. Lefèvre, Département Métrologie des polluants ;  
Centre de Lorraine, INRS, Vandœuvre-lès-Nancy,

M. Lefebvre, Département Produits d'information, INRS, Paris.

# Exposition au benzène chez les mécaniciens

## Évaluation atmosphérique et surveillance biologique

→ R. Gaudin, P. Ducos, J.M. Francin, P. Marsan, A. Robert, Département Polluants et santé, T. Nicot, Département Ingénierie des procédés ;  
C. Lefèvre, Département Métrologie des polluants ;  
Centre de Lorraine, INRS, Vandœuvre-lès-Nancy,

M. Lefebvre, Département Produits d'information, INRS, Paris.

# Exposition au benzène chez les mécaniciens

## Évaluation atmosphérique et surveillance biologique

### BENZENE EXPOSURE IN VEHICLE MECHANICS:

ATMOSPHERIC ASSESSMENT AND BIOLOGICAL MONITORING

The presence of benzene in gasoline as well as the evocation of a risk of leukemia in the mechanics of garage is at the origin of questioning from the occupational medicine which worries about real levels of exposure and the relative importance of the cutaneous penetration during direct contact with gasoline. The assessment of the exposure to benzene has been performed on 114 mechanics belonging to 37 garages during a workweek. Completed before 1<sup>st</sup> January 2000 when benzene in gasoline was limited to 1 %, this study, based on atmospheric as well as urinary sampling, was intended to measure the excretion of muconic acid in order to assess overall exposure to benzene. The results show moderate exposure to atmospheric benzene, more important in the mechanics of motorcycle and cultivator garages (medians: 0.14 and 0.16 ppm respectively) than those of the car garages (median: 0.03 ppm). Atmospheric concentrations are in agreement with the urinary concentrations of muconic acid whose end of shift levels in motorcycle, cultivator and car garages are 0.21, 0.27 and 0.09 mg/l respectively. Moreover the median contribution of cutaneous penetration, quantitatively similar to that of smoking, does not seem to exceed 0.04 to 0.06 mg/l as muconic acid, which is approximately equivalent to an eight-hour exposure to 0.03-0.04 ppm atmospheric benzene. The efforts of prevention should be directed especially towards motorcycle and cultivator garages where the results show benzene exposure higher than for car repairs.

● benzene ● gasoline ● muconic acid ● garage ● mechanic

La présence de benzène dans l'essence, ainsi que l'évocation dans la littérature d'un risque d'apparition de leucémies chez les mécaniciens de garages sont à l'origine d'interrogations de la médecine du travail qui s'inquiète des niveaux d'exposition réels et de l'importance relative de la pénétration cutanée lors de contacts directs avec l'essence. L'évaluation de l'exposition au benzène a été réalisée chez 114 mécaniciens, appartenant à 37 garages, pendant une semaine de travail. L'étude, terminée avant le 1<sup>er</sup> janvier 2000, date à partir de laquelle la teneur en benzène de l'essence ne devait plus dépasser 1 % en volume, reposait sur des prélèvements atmosphériques ainsi que sur des prélèvements urinaires destinés à évaluer l'excrétion d'acide muconique intégrant la globalité des voies d'exposition.

Les résultats mettent en évidence une exposition modérée au benzène atmosphérique plus importante chez les mécaniciens des garages « motos » et motoculture (0,14 et 0,16 ppm, médianes respectives) que ceux des garages « autos » (médiane : 0,03 ppm). Quelques valeurs atteignent cependant 1 ppm. Les concentrations atmosphériques sont bien en accord avec les concentrations urinaires en acide muconique, dont les médianes de fin de journée chez les mécaniciens des garages « motos », motoculture et « autos » sont respectivement de 0,21, 0,27 et 0,09 mg/l. D'autre part, la contribution médiane de la pénétration percutanée, quantitativement similaire à celle du tabagisme, ne semble pas dépasser 0,04 à 0,06 mg/l d'acide muconique, soit approximativement l'équivalent de 0,03 à 0,04 ppm de benzène atmosphérique sur la journée de travail.

Les efforts des préventeurs devront être surtout orientés vers les garages « motos » et motoculture où les résultats montrent une exposition au benzène plus élevée que pour les garages « autos ».

● benzène ● essence ● acide muconique ● garage ● mécanicien

Un risque accru de leucémie a été rapporté chez certaines catégories professionnelles exposées aux carburants, en particulier chez les mécaniciens et serveurs de stations-service [1 à 7].

Le benzène, cancérigène avéré et présent dans les différents types de carburant (2-3 % en moyenne au moment de l'étude ; actuellement la concentration maximale autorisée est de 1 % [8]), serait l'un des agents chimiques potentiellement responsable en raison de son activité leucémogène ; ce lien est cependant atténué dans les conclusions d'une publication examinant de façon critique les données de la littérature [9].

Dans ce contexte, des demandes de la médecine du travail, s'inquiétant du

niveau d'exposition au benzène des mécaniciens de garage, sont parvenues à l'INRS, confirmant ainsi le besoin d'entreprendre une étude suffisamment exhaustive évaluant l'exposition au benzène dans cette profession.

Cette inquiétude se retrouve également à l'examen de plusieurs enquêtes déjà publiées, où les problèmes de la persistance d'une exposition au benzène chez les mécaniciens et de l'importance relative de la voie d'exposition, cutanée ou atmosphérique, sont posés [10 à 15].

D'autre part, une récente directive européenne fixe pour le 27 juin 2000, une valeur limite d'exposition à 1 ppm (avec une tolérance à 3 ppm, jusqu'au 27 juin 2003) [16].

Dès lors, trois objectifs principaux s'imposaient :

- répondre aux interrogations de la médecine du travail ;
- situer le niveau d'exposition au benzène chez les mécaniciens par rapport aux prescriptions réglementaires ;
- tenter d'évaluer l'importance relative des deux voies d'exposition, inhalatoire ou cutanée, à l'aide de mesures atmosphériques (dosage du benzène) et biologiques (dosage urinaire de l'acide *trans,trans*-muconique, noté *t,t*-muconique) (fig. 1).

Pour ce faire, l'implication des médecins du travail sensibilisés a été nécessaire, et nous avons donc sollicité leur collaboration autour d'un canevas général servant de trame méthodologique, articulé autour de plusieurs axes prépondérants :

- le choix des garages ;
- les prélèvements atmosphériques et biologiques ;
- les méthodes analytiques utilisées.

## 1. Matériels et méthodes

### 1.1. Organisation générale

Le choix des garages a été effectué par les médecins du travail, préalablement sollicités ; sept associations de médecine du travail ont ainsi été impliquées (1). Une visite préliminaire réalisée en présence du médecin du travail concerné, permettait la nécessaire information des personnes soumises aux prélèvements et facilitait l'organisation matérielle de l'intervention future.

114 personnes appartenant à 37 garages ont fait l'objet de prélèvements atmosphériques et urinaires.

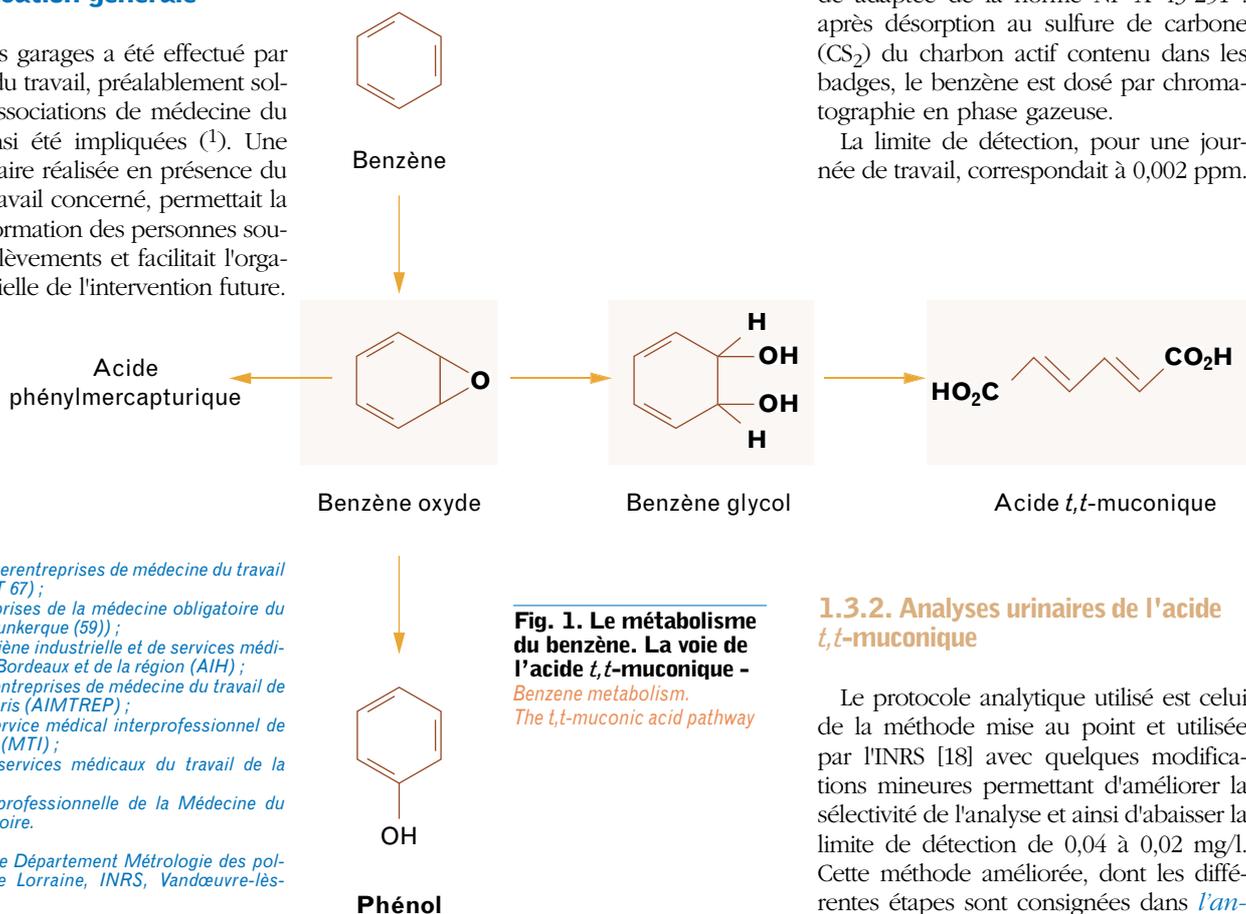
Sur les 37 garages, 20 étaient des garages de réparation automobile, 11 des groupes spécialisés dans les motocycles et 6 des ateliers de motoculture (le nombre de personnes surveillées par garage allait de 2 à 7).

D'autre part, 50 témoins, non professionnellement exposés au benzène, ont été choisis parmi le personnel des associations de médecine du travail.

Pour rendre compte au mieux des conditions de travail habituelles, les prélèvements ont été réalisés sur une période de 5 jours consécutifs.

Chaque soir, une fiche de poste, remplie avec l'intéressé, relatait l'activité de la journée et avait notamment pour but de distinguer les opérations entraînant une exposition cutanée jugée significative (notation 1) de celles qui n'étaient pas considérées polluantes (pas de contact direct avec l'essence, notation 2).

Le tabagisme était également renseigné, puisque la fumée de tabac contient du benzène (une cigarette consommée produit environ 50 µg de benzène [17]).



## 1.2. Prélèvements atmosphériques et biologiques

### 1.2.1. Prélèvements atmosphériques

Ils ont été effectués à l'aide d'un échantillonneur « passif » (badges INRS « GABIE ») fixé pendant la journée de travail, à hauteur des voies respiratoires et durant la semaine de travail. Les badges, récupérés chaque soir, étaient conservés au réfrigérateur (+ 4 °C) avant analyse. Les contaminations possibles des badges par projection ont été renseignées dans les fiches de poste. Quelques cas litigieux ou avérés ont été écartés après analyse.

### 1.2.2. Prélèvements urinaires

Chaque participant, mécanicien ou témoin, se soumettait quotidiennement à un recueil urinaire en début et fin de journée de travail. Les échantillons collectés étaient congelés sur place (- 20 °C).

## 1.3. Méthodes analytiques

### 1.3.1. Déterminations du benzène atmosphérique (2)

Elles ont été réalisées selon une méthode adaptée de la norme NF X 43-251 : après désorption au sulfure de carbone (CS<sub>2</sub>) du charbon actif contenu dans les badges, le benzène est dosé par chromatographie en phase gazeuse.

La limite de détection, pour une journée de travail, correspondait à 0,002 ppm.

### 1.3.2. Analyses urinaires de l'acide *t,t*-muconique

Le protocole analytique utilisé est celui de la méthode mise au point et utilisée par l'INRS [18] avec quelques modifications mineures permettant d'améliorer la sélectivité de l'analyse et ainsi d'abaisser la limite de détection de 0,04 à 0,02 mg/l. Cette méthode améliorée, dont les différentes étapes sont consignées dans l'an-

TABLEAU I

**ACIDE *t,t*-MUCONIQUE ET BENZÈNE ATMOSPHÉRIQUE CHEZ LES GARAGISTES -**  
*t,t*-MUCONIC ACID AND AIRBORNE BENZENE IN THE GARAGE MECHANICS

	ACIDE <i>t,t</i> -MUCONIQUE				BENZÈNE ATMOSPHÉRIQUE N = 496 ppm
	Avant le travail n = 512		Après le travail n = 508		
	mg/l	mg/g (*)	mg/l	mg/g (*)	
Moyenne arithmétique	0,09	0,05	0,17	0,12	0,11
Médiane	0,06	0,03	0,11	0,08	0,05
Étendue	< 0,02-3,0	0,03-0,89	< 0,02-1,1	0,03-1,8	< 0,002-1,4

TABLEAU II

**VALEURS RELEVÉES CHEZ LES TÉMOINS -**  
 VALUES RECORDED IN CONTROLS

	ACIDE <i>t,t</i> -MUCONIQUE				BENZÈNE ATMOSPHÉRIQUE N = 221 ppm
	Avant le travail n = 223		Après le travail n = 220		
	mg/l	mg/g (*)	mg/l	mg/g (*)	
Moyenne arithmétique	0,04	0,04	0,05	0,04	0,003
Médiane	< 0,02	0,02	0,02	0,03	< 0,002
Étendue	< 0,02-0,44	< 0,002-0,50	< 0,02-0,66	0,003-0,30	< 0,002-0,031

(\*) Valeurs corrigées par rapport à la créatinine : mg d'acide *t,t*-muconique par gramme de créatinine. n = Nombre de prélèvements.

TABLEAU III

**RÉSULTATS SELON LE TYPE DE GARAGE (\*\*) -**  
 RESULTS ACCORDING TO TYPE OF GARAGE

	ACIDE <i>t,t</i> -MUCONIQUE						BENZÈNE ATMOSPHÉRIQUE ppm		
	Avant le travail mg/l (mg/g)			Après le travail mg/l (mg/g)			A n = 347	M n = 98	MC n = 51
	A n = 363	M n = 96	MC n = 53	A n = 356	M n = 99	MC n = 53			
Moyenne arithmétique	0,07 (0,04)	0,13 (0,07)	0,11 (0,06)	0,13 (0,09)	0,27 (0,15)	0,31 (0,26)	0,07	0,18	0,20
Médiane	0,05 (0,03)	0,07 (0,04)	0,09 (0,06)	0,09 (0,06)	0,21 (0,14)	0,27 (0,21)	0,03	0,14	0,16
Étendue	< 0,02-1,4	< 0,02-3,0	< 0,02-0,32	< 0,02-0,97	< 0,02-1,0	0,04-1,1	< 0,002-1,3	0,09-0,7	0,04-1,4

(\*\*) A : Automobile. M : Motocycle. MC : motoculture. Valeurs corrigées : mg/g de créatinine.

nexe I, donne des résultats comparables à ceux obtenus avec le protocole habituel : test de Mann-Whitney,  $p < 0,05$ , sur 15 analyses urinaires provenant de salariés exposés au benzène (avec des concentrations allant de 0,04 à 0,72 mg/l).

### 1.3.3. Dosage de la créatinine (3)

Les déterminations ont été effectuées selon la méthode de Jaffé [19]. Les valeurs d'acide *t,t*-muconique sont aussi exprimées par rapport à la créatinine, pour tenir compte de la diurèse.

(3) Réalisées par le Département Polluants et santé, Centre de Lorraine, INRS, Vandœuvre-lès-Nancy.

## 1.4. Analyses statistiques

Les différences entre les populations sont mises en évidence par les tests non paramétriques de Kruskal-Wallis ou de Mann-Whitney (logiciel Statgraphics®). Les régressions sont étudiées après transformation logarithmique en raison de la distribution des données proches d'une loi lognormale.

Les données provenant d'un même individu pendant la semaine de travail sont considérées comme indépendantes en raison de la variabilité des expositions plus déterminante que le facteur individuel [20].

Lorsque les concentrations n'étaient pas décelables, les limites de détection du benzène atmosphérique et de l'acide *t,t*-

muconique ont été divisées par deux [21, 22]. Sauf précision, seules les analyses de régression ont été réalisées à partir des données égales ou supérieures aux limites de détection.

## 2. Résultats

### 2.1. Acide muconique et benzène atmosphérique

Les résultats consignés dans les tableaux, proviennent au total, de 1 463 analyses urinaires d'acide *t,t*-muconique et 717 déterminations de benzène atmosphérique (garagistes et témoins) (tableaux I, II et III).

On notera que, chez les témoins, 50 % des concentrations atmosphériques de benzène ainsi que 50 % des concentrations d'acide *t,t*-muconique urinaire de fin de journée étaient inférieures aux limites de détection respectives, soit 0,002 ppm et 0,02 mg/l. Chez les garagistes (exposés), les pourcentages correspondants étaient respectivement de 0,2 et 11 %.

## 2.2. Tabagisme

Les *tableaux IV et V* rendent compte de l'influence du tabagisme sur l'excrétion urinaire d'acide *t,t*-muconique.

## 3. Discussion et conclusions

### Les mécaniciens sont exposés au benzène mais de façon différente selon le type de garage

La différence entre les excréments urinaires de fin de journée de travail (*tableaux I et II*), en acide *t,t*-muconique des mécaniciens, toutes catégories confondues (médiane : 0,11 mg/l), et celles des témoins (médiane : 0,02 mg/l) est très significative : test de Mann-Whitney,  $p < 10^{-7}$ .

De la même façon, la comparaison entre les valeurs de benzène atmosphérique observées chez les garagistes (médiane 0,05 ppm) et celles relevées chez les témoins (médiane  $< 0,002$  ppm, limite de détection) présente une différence très significative : test de Mann-Whitney,  $p < 10^{-7}$ .

D'autre part, la comparaison entre les excréments urinaires de début de journée chez les mécaniciens (médiane 0,06 mg/l) et celles de fin de journée (médiane 0,11 mg/l) (*cf. tableau I*) indique une différence très significative : test de Mann-Whitney,  $p < 10^{-7}$ .

À l'inverse, il n'est pas constaté de différence significative entre les excréments urinaires de début et fin de journée chez les témoins (*cf. tableau II*) : test de Mann-Whitney,  $p = 0,12$ .

De plus, une relation significative est obtenue en effectuant une régression linéaire entre l'exposition au benzène chez les garagistes et l'excrétion urinaire de fin de journée en acide *t,t*-muconique :  $p < 10^{-4}$ ,  $r = 0,45$ .

L'ensemble de ces observations : augmentation des concentrations urinaires en acide *t,t*-muconique en fin de journée de travail, différence significative par rapport aux témoins des valeurs en benzène atmosphérique et des concentrations urinaires en acide *t,t*-muconique, sont cohérentes

avec une exposition au benzène spécifique des garagistes.

D'une façon générale, les résultats sont proches des valeurs publiées récemment dans la littérature : la valeur médiane des concentrations en benzène, pour l'ensemble des mécaniciens est de 0,05 ppm (0,03 ppm pour les seuls garages automobiles) alors que Javelaud et coll. donnent 0,04 ppm et Hotz et coll., 0,01 ppm [13, 14].

La valeur moyenne, quant à elle, est de 0,11 ppm (étendue :  $< 0,002-1,4$ ), un peu inférieure aux valeurs suédoises rapportées par Nordlinder : 0,6 ppm (étendue : 0,1-2,1) [23].

En ce qui concerne l'acide *t,t*-muconique, la médiane des excréments urinaires de fin de journée est de 0,11 mg/l (0,08 mg/g de créatinine), alors que Javelaud et coll. donnent 0,16 mg/l (0,13 mg/g de créatinine) et Hotz et coll. 0,11 mg/g de créatinine [13, 14].

L'examen des résultats relatifs aux trois catégories de garages (automobile, motocycle et motoculture) met en évidence des valeurs contrastées concernant la médiane des valeurs en benzène atmosphérique :

- pour les garages « autos » : 0,03 ppm,
- pour les garages « motos » : 0,14 ppm,
- pour les ateliers de motoculture : 0,16 ppm.

Les concentrations urinaires de fin de

TABLEAU IV

### INFLUENCE DU TABAGISME SUR L'EXCRÉTION URINAIRE D'ACIDE *t,t*-MUCONIQUE CHEZ LES GARAGISTES -

INFLUENCE OF SMOKING ON URINARY EXCRETION OF *t,t*-MUCONIC ACID IN THE GARAGE MECHANICS

	ACIDE <i>t,t</i> -MUCONIQUE (FIN DE JOURNÉE DE TRAVAIL)			
	Fumeurs (n = 51)		Non-fumeurs (n = 63)	
	mg/l	mg/g (*)	mg/l	mg/g (*)
Moyenne arithmétique	0,21	0,14	0,15	0,10
Médiane	0,14	0,11	0,10	0,06
Étendue	$< 0,02-1,1$	0,003-0,92	$< 0,02-0,97$	0,004-1,8

(\*) Valeurs corrigées par rapport à la créatinine.

TABLEAU V

### INFLUENCE DU TABAGISME SUR L'EXCRÉTION URINAIRE D'ACIDE *t,t*-MUCONIQUE CHEZ LES TÉMOINS -

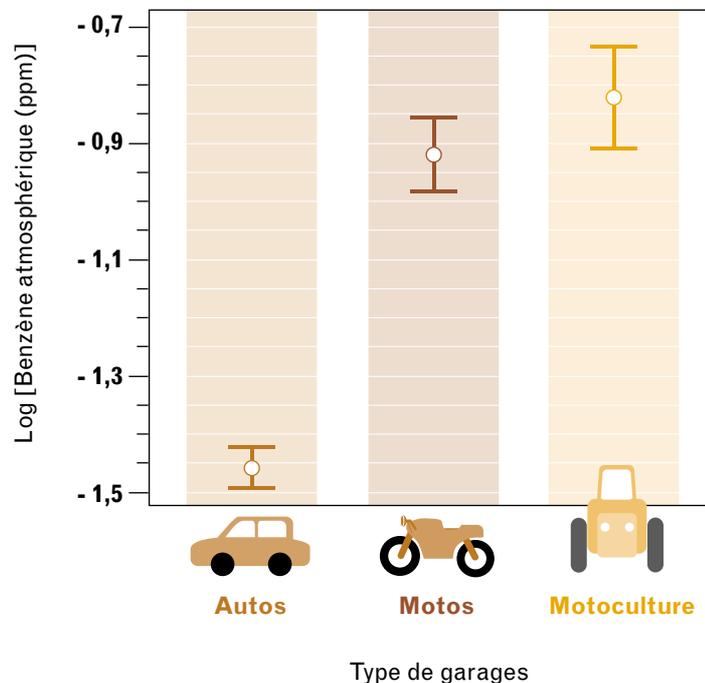
INFLUENCE OF SMOKING ON URINARY EXCRETION OF *t,t*-MUCONIC ACID IN THE CONTROLS

	ACIDE <i>t,t</i> -MUCONIQUE (FIN DE JOURNÉE DE TRAVAIL)			
	Fumeurs (n = 10)		Non-fumeurs (n = 40)	
	mg/l	mg/g (*)	mg/l	mg/g (*)
Moyenne arithmétique	0,10	0,07	0,04	0,04
Médiane	0,05	0,05	0,02	0,02
Étendue	$< 0,02-0,66$	0,004-0,30	$< 0,02-0,5$	0,003-0,20

(\*) Valeurs corrigées par rapport à la créatinine.

**Fig. 2. Représentations graphiques des différences d'exposition en fonction du type de garages -**

*Graphical representations of differences in exposure according to type of work*

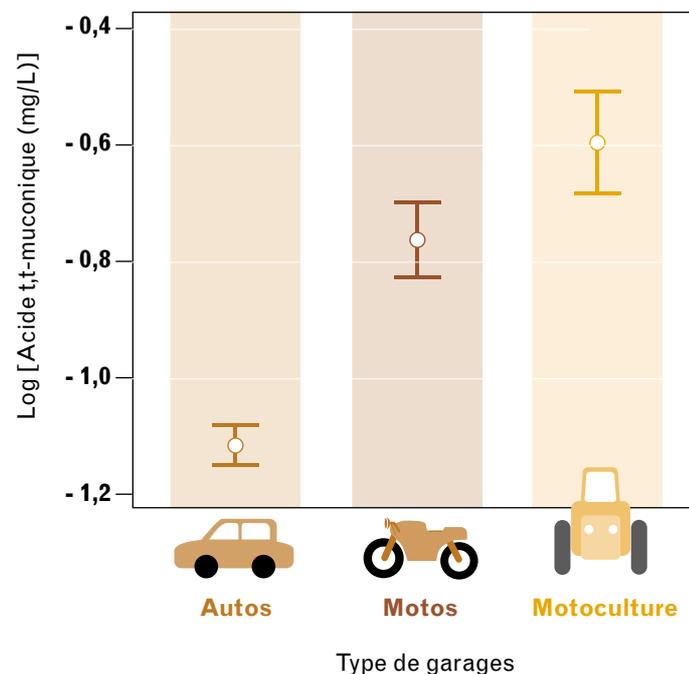


journée de travail en acide *t,t*-muconique vont dans le même sens :

- pour les garages « autos » : 0,09 mg/l (0,06 mg/g de créatinine),
- pour les ateliers « motos » : 0,21 mg/l (0,14 mg/g de créatinine),
- pour les ateliers de motoculture : 0,27 mg/l (0,21 mg/g de créatinine).

Ces différences sont représentées par les graphiques (fig. 2), où les moyennes des logarithmes des concentrations (benzène et acide muconique) pour chaque type de garages, sont encadrées par leurs intervalles de confiance à 95 %.

Ainsi, les mécaniciens des garages « motos » et motoculture, dont les interventions fréquentes sur différents organes mécaniques obligent, plus que sur les voitures, à un contact direct (essence liquide et/ou vapeurs) sans protection particulière, présentent logiquement les valeurs les plus élevées en benzène atmosphérique et excrètent plus d'acide *t,t*-muconique que ceux des garages « autos », où les interventions de même nature sont maintenant comparativement assez rares.



### Le tabagisme influe sur l'excrétion urinaire d'acide *t,t*-muconique

L'influence du tabagisme sur l'excrétion urinaire de l'acide *t,t*-muconique a également été notée (cf. tableau IV).

Les fumeurs exposés, ainsi que les fumeurs témoins, excrètent des quantités plus importantes d'acide *t,t*-muconique que les non-fumeurs (valeurs médianes de fin de journée) : 0,14 et 0,10 mg/l pour les exposés respectivement fumeurs et non-fumeurs, à comparer respectivement à 0,05 et 0,02 mg/l chez les témoins.

Les différences entre garagistes fumeurs et non-fumeurs sont statistiquement significatives (test de Mann-Whitney :  $p < 10^{-4}$  pour les exposés et  $p < 10^{-7}$  pour les

témoins), alors que les expositions atmosphériques de ces deux catégories ne sont pas significativement différentes avec des médianes équivalentes (0,05 ppm, test de Kruskal-Wallis :  $p = 0,83$ ).

Ces résultats ne sont pas surprenants, puisque la fumée de tabac contient des quantités non négligeables de benzène (environ 50 µg par cigarette).

### La pénétration cutanée n'est pas prépondérante

Pour tenter d'évaluer l'importance de la pénétration cutanée, une solution consiste à utiliser le modèle préalablement établi [20] où les valeurs les plus probables d'acide *t,t*-muconique peuvent être déduites des concentrations atmosphériques de benzène.

Le modèle avait été construit sur la base d'expositions exclusivement atmosphériques et a été validé ultérieurement en milieu professionnel.

À partir de l'équation (1) permettant de déterminer l'excrétion urinaire de fin de poste la plus probable liée à une exposition atmosphérique exclusive, il est possible, en utilisant les médianes (paramètre le plus robuste), de comparer les différences observées entre la valeur calculée et la valeur mesurée en fonction de la classification issue des fiches de poste : exposition atmosphérique exclusive (notée 1) vs exposition atmosphérique accompagnée de contact cutané (notée 2).

Ces résultats, rapportés dans le tableau VI, montrent que les valeurs médianes de benzène atmosphérique prévoient des valeurs d'excrétion en acide muconique très voisines de celles effectivement mesurées (mais toujours plus élevées que les valeurs calculées). Le mode d'exposition ne permet pas de mettre en évidence une contribution cutanée importante, surtout si l'on considère que les contributions supplémentaires du tabagisme et de l'éventuel bruit de fond environnemental sont prises en compte dans les valeurs mesurées d'acide muconique. On remarquera surtout qu'en situation de contact cutané (les valeurs de la classe 2), il y a logiquement augmentation concomitante et très significative de l'exposition atmosphérique, expliquant en grande partie les concentrations d'acide muconique observées en fin de poste. En tout état de cause, dans les conditions de l'étude, la contribution de la résorption cutanée à l'excrétion urinaire ne semble pas dépasser quelques dizaines de µg/l d'acide muconique.

Une autre solution réside dans l'utilisation d'une analyse de régression multiple où l'excrétion d'acide *t,t*-muconique (variable à expliquer) est reliée à l'exposition atmosphérique ainsi qu'aux facteurs « tabagisme » (T) et « exposition cutanée » (EC).

L'équation (2) de régression - obtenue après sélection des seules valeurs d'acide *t,t*-muconique supérieures ou égales à la limite de détection, dans laquelle les 3 paramètres T, EC et [benzène] ont un effet très significatif sur l'excrétion en acide muconique - permet de quantifier l'effet du tabagisme et de l'exposition cutanée qui sont sensiblement équivalents :

- pour T = 1 (fumeurs) et EC = 1 (exposés par voie cutanée), les contributions sont respectivement d'environ 0,03 et 0,04 mg/l d'acide *t,t*-muconique.

Ce résultat est cohérent avec les considérations précédentes basées sur les estimations du modèle général.

On remarquera d'ailleurs que l'équation (2), appliquée à la médiane des valeurs de benzène atmosphérique mesurées dans

cette étude (0,05 ppm), donne pour les non-fumeurs (T = 0) non exposés par voie cutanée (EC = 0), une valeur d'acide *t,t*-muconique de 0,073 mg/l, qui correspond exactement à la valeur donnée par le modèle général (cf. équation (1)) pour la même valeur de benzène atmosphérique.

Enfin une analyse de variance multifactorielle, utilisant comme covariables l'exposition atmosphérique au benzène et le tabagisme, confirme les observations précédentes. Elle montre en particulier que, si l'excrétion d'acide *t,t*-muconique est significativement plus élevée chez les garagistes ayant eu des contacts cutanés que chez ceux qui n'ont pu être exposés par cette voie, l'écart entre les deux populations est de l'ordre de 0,046 à 0,060 mg/l, selon que l'on écarte ou non les données inférieures aux limites de détection.

La contribution de la pénétration cutanée semble donc faible et de l'ordre de grandeur de la contribution du tabagisme qui, dans ce contexte professionnel, reste aussi globalement assez faible.

## ÉQUATION (1)

$$\log [\text{acide muconique ; mg/l}] = 0,924 \log [\text{benzène ; ppm}] + 0,066$$

## ÉQUATION (2)

$$[\text{acide } t,t\text{-muconique ; mg/l}] = 0,064 + 0,032 \times T + 0,042 \times EC + 0,18 \times [\text{benzène ; ppm}]$$

TABLEAU VI

COMPARAISON DES EXCRÉTIONS ATTENDUES D'ACIDE *t,t*-MUCONIQUE EN FONCTION DE L'EXPOSITION AU BENZÈNE ATMOSPHÉRIQUE ET DES VALEURS MESURÉES (MÉDIANES) -COMPARISON OF THE EXPECTED *t,t*-MUCONIC ACID EXCRETIONS ACCORDING TO AIRBORNE BENZENE EXPOSURE AND THE VALUES MEASURED (MEDIANS)

GARAGES	CLASSE (NOMBRE D'OBSERVATION)	BENZÈNE ATMOSPHÉRIQUE (ppm)	ACIDE MUCONIQUE CALCULÉ (mg/l)	ACIDE MUCONIQUE MESURÉ (mg/l)	ACIDE MUCONIQUE MESURÉ-CALCULÉ (mg/l)
A + M + MC	1 (n = 341)	0,034	0,05	0,09	0,04
	2 (n = 153)	0,16	0,21	0,23	0,02
A	1 (n = 291)	0,030	0,05	0,08	0,03
	2 (n = 55)	0,063	0,09	0,12	0,03
M	1 (n = 40)	0,066	0,09	0,10	0,01
	2 (n = 57)	0,19	0,25	0,28	0,03
MC	1 (n = 10)	0,085	0,12	0,24	0,12
	2 (n = 41)	0,17	0,17	0,23	0,06

(\*) Classe 1 : Exposition exclusive au benzène atmosphérique.  
Classe 2 : Exposition mixte (atmosphérique + cutanée).  
A : Automobile ; M : Motos ; MC : Motoculture.

## ENCADRÉ N° 1

## QUELQUES POURCENTAGES

## Sur 496 valeurs de benzène atmosphérique :

4 sont supérieures à	1 ppm	0,8 %
15 sont supérieures à	0,5 ppm	2,8 %
134 sont supérieures à	0,1 ppm	27 %

Sur 508 valeurs d'acide *t,t*-muconique de fin de journée de travail :

2 sont supérieures à	1 mg/l	0,4 %
36 sont supérieures à	0,5 mg/l	7,1 %
259 sont supérieures à	0,1 mg/l	52,2 %

rant la résorption cutanée comme négligeable dans ces secteurs d'activité [13] ;

■ ■ indiquent une excrétion d'acide *t,t*-muconique chez les mécaniciens plus importante en fin de poste de travail (médiane : 0,11 mg/l) qu'en début de poste (médiane : 0,06 mg/l) et plus élevée que celle des témoins ; les concentrations urinaires en acide *t,t*-muconique sont bien en relation significative avec les concentrations en benzène atmosphérique ( $r = 0,45$ ,  $p < 10^{-4}$ ).

Ces résultats confirment la pertinence du dosage de l'acide *t,t*-muconique comme indicateur d'exposition au benzène pour des valeurs bien inférieures à la ppm ;

Au vu de ces éléments, les préventeurs devront sensibiliser les mécaniciens et salariés en contact avec des carburants sur le risque d'exposition au benzène, risque modéré mais patent (*encadrés 2 et 3*). Dans cette logique de prévention, des plaquettes informatives (*annexe 2*), destinées aux mécaniciens, et élaborées par l'INRS (<sup>4</sup>), seront diffusées par l'intermédiaire des services Prévention des CRAM et de la médecine du travail.

## Nous remercions

tout particulièrement les médecins du travail « coordinateurs » de cette étude qui, dans leurs associations de médecine du travail, ont préparé nos interventions :

Mmes et Mrs les Drs WENDLING, MERIOT, LEVERY, GOUJON, MARMIN, RIVAS, ainsi que Mmes les Drs DIMMERMAN et LAUZIER du service médical de la CRAM (Caisse régionale de l'assurance maladie) d'Île-De-France.

(<sup>4</sup>) INRS, Département Produits d'information, Paris.

## EN CONCLUSION, LES RÉSULTATS

■ ■ traduisent une exposition modérée au benzène chez les mécaniciens surveillés : 0,11 et 0,05 ppm, (respectivement moyenne arithmétique et médiane des valeurs en benzène atmosphérique), avec des concentrations atmosphériques plus ou moins importantes selon le type de garage, les mécaniciens des garages « motos » et motoculture étant les plus exposés (0,14 et 0,16 ppm en valeurs médianes).

Pendant quelques valeurs élevées ont été constatées ponctuellement dans un garage automobile de dimensions exigües et mal ventilé : 1,3 et 1 ppm sur 8 heures de travail (*encadré 1*) ;

■ ■ confirment l'influence du tabagisme sur l'excrétion urinaire d'acide *t,t*-muconique, rejoignant ainsi les conclusions de plusieurs études [13, 14].

Toutefois, la contribution médiane du tabagisme ne semble pas excéder 0,04-0,06 mg/l d'acide muconique (équivalent à 0,03-0,04 ppm de benzène atmosphérique), ce qui ne compromet donc pas l'utilisation de l'acide *t,t*-muconique comme indicateur biologique d'exposition au benzène jusqu'à des valeurs aussi basses que 0,1 ppm [20, 23 à 25] ;

■ ■ ne permettent de mettre en évidence qu'une faible contribution de l'exposition cutanée proche quantitativement de celle liée au tabagisme, ce qui est cohérent avec les conclusions de Hotz et coll. considé-

## ENCADRÉ N° 2

## LE BENZÈNE ET LA LÉGISLATION FRANÇAISE ACTUELLE EN MILIEU PROFESSIONNEL (RAPPEL)

1 ppm  
(partie par million)

Valeur limite de moyenne d'exposition (VME) autorisée pour 8 heures de travail (\*)

0,1 %

Teneur maximale autorisée dans les substances (\*\*)

1 %

Teneur maximale en benzène autorisée dans l'essence depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2000 (\*\*)

(\*) Valeurs précisées dans le Décret n° 2001-97. Journal Officiel n° 29, 3 fév. 2001.

(\*\*) Journal Officiel des Communautés européennes, n° L. 350 du 28/12/1998, pp. 58-68.

## ENCADRÉ N° 3

## INDICES BIOLOGIQUES D'EXPOSITION : QUELQUES VALEURS INDICATIVES POUR LE BENZÈNE

◆ 1,2 mg/l ou 0,9 mg/g de créatinine en acide *t,t*-muconique : valeurs correspondantes à la VME de 1 ppm (d'après nos données).

◆ 2 mg/l, EKA allemand pour 1 ppm (\*).

◆ 0,5 mg/g (valeur corrigée par gramme de créatinine) : valeur américaine recommandée par l'ACGIH (\*\*) et correspondant à une exposition de 0,5 ppm (identique à la valeur INRS obtenue pour ce même niveau d'exposition).

(\*) EKA : *Expositionsäquivalente für krebserzeugende Arbeitsstoffe*.

(\*\*) ACGIH : *American Conference of Governmental Industrial Hygienists*.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] MILHAM S. – Occupational Mortality in Washington State, 1950-1979. *Cincinnati, US Dept. Of Health and Human Services - Centers for Disease Control, 1983, NIOSH Publ. N° 83-116.*
- [2] DUBROW R., WEGMAN D.H. – Occupational Characteristics of White Cancer Victims in Massachusetts, 1971-1973. *Cincinnati, US Dept. Of Health and Human Services - Centers for Disease Control, 1984, NIOSH Publ. N° 84-109.*
- [3] BRANDT L., NILSSON P.G., MITELMAN F. – Occupational exposure to petroleum products in men with acute non-lymphocytic leukaemia. *British Medical Journal, 1978, 1, p. 553.*
- [4] SCHWARTZ E. – Proportionate mortality ratio analysis of automobile mechanics and gasoline service station workers in New Hampshire. *American Journal of Industrial Medicine, 1987, 12, pp. 91-99.*
- [5] INFANTE P.F., SCHWARTZ E., CAHILL R. – Benzene in petrol: a continuing hazard. *The Lancet, 1990, 336, pp. 814-815.*
- [6] HUNTING K.L., LONGBOTTOM H., KALAVAR S.S., STERN F., SCHWARTZ E., WELCH L.S. – Haematopoietic cancer mortality among vehicle mechanics. *Occupational and Environmental Medicine, 1995, 52, pp. 673-678.*
- [7] NILSSON R.I., NORDLINDER R.G., TAGESSON C., WALLE S., JARVHOLM B.G. – Genotoxic effects in workers exposed to low levels of benzene from gasoline. *American Journal of Industrial Medicine, 1996, 30, 3, pp. 317-324.*
- [8] Directive 1998/70/CE du Parlement Européen et du Conseil du 13 octobre 1998 concernant la qualité de l'essence et des carburants diesel et modifiant la directive 93/12/CEE du Conseil - *Journal Officiel des Communautés Européennes, n° L. 350 du 28/12/1998, pp. 58-68.*
- [9] HOTZ P., LAUWERYS R.R. – Hematopoietic and lymphatic malignancies in vehicle mechanics. *Critical Reviews in Toxicology, 1997, 27, 5, pp. 443-494.*
- [10] MACHEFER J., BIDRON P., GUIGNER P.M. – Exposition aux hydrocarbures benzéniques des carburants automobiles chez les mécaniciens et chez les pompiers. *Archives des Maladies Professionnelles, 1990, 51, pp. 89-94.*
- [11] MERIOT A., GUESSARD-TRONCHE C., NOUSBAUM M., HERVE A., HENAFF M., RAVALET G. – Évaluation de l'exposition au benzène de 100 mécaniciens du Finistère. *Archives des Maladies Professionnelles, 1994, 55, 8, pp. 595-602.*
- [12] VALLÉE P. – Évaluation par le dosage de l'acide muconique urinaire de l'imprégnation par le benzène chez les mécaniciens en réparation automobile et motoculture. *Archives des Maladies Professionnelles, 1995, 56, 8, pp. 620-623.*
- [13] HOTZ P., CARBONNELLE P., HAUFROID V., TSCHOOP A., BUCHET J.P., LAUWERYS R. – Biological monitoring of vehicle mechanics and other workers exposed to low concentrations of benzene. *International Archives of Occupational and Environmental Health, 1997, 70, pp. 29-40.*
- [14] JAVELAUD B., VIAN L., MOLLE R., ALLAIN P., ALLEMAND B. et al. – Benzene exposure in car mechanics and road tanker drivers. *International Archives of Occupational and Environmental Health, 1998, 71, 4, pp. 277-283.*
- [15] WENDLING J.M., HEID L., GONZALEZ M., MIRABEL D., WIRRMANN C., LENOBLE H., ZORGNOTTI H., MACHALEKA. – Évaluation de l'exposition au benzène chez les mécaniciens automobile. *Archives des Maladies Professionnelles, 2000, 61, 3, pp. 162-169.*
- [16] Directive 1999/38/CE du Conseil du 29 avril 1999 modifiant la directive 90/394/CEE concernant la protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition à des agents cancérigènes au travail, et l'étendant aux agents mutagènes. *Journal Officiel des Communautés Européennes, N° L. 138 du 1<sup>er</sup> Juin 1999, pp. 66-69.*
- [17] IARC monographs on the carcinogenic risk of chemicals to humans: tobacco smoking. *Lyon, IARC, February 1985, vol. 38, pp. 12-20.*
- [18] DUCOS P., GAUDIN R., ROBERT A., FRANCCIN J.M., MAIRE C. – Improvement in HPLC analysis of urinary trans,trans-muconic acid, a promising substitute for phenol in the assessment of benzene exposure. *International Archives of Occupational and Environmental Health, 1990, 62, pp. 529-534.*
- [19] JAFFÉ M. – Über der Niederschlag, welchen Pikriksäure in normalem Harn erzeugt und über eine neue Reaktion des Kreatinins. *Zeitschrift für Physikalische Chemie, 1886, 10, pp. 391-400.*
- [20] DUCOS P., GAUDIN R., BEL J., MAIRE C., FRANCCIN J.M., ROBERT A., WILD P. – Trans,trans-muconic acid, a reliable biological indicator down to the ppm level. *International Archives of Occupational and Environmental Health, 1992, 64, pp. 309-313.*
- [21] HORNUNG R.W., REED L.D. – Estimation of average concentration in the presence of non detectable values. *Applied Occupational and Environmental Hygiene, 1990, 5, pp. 46-51.*
- [22] PERKINS J.L., CUTTER C.N., CLEVELAND M.S. – Estimating the mean, variance and confidence limits from censored (limit of detection), lognormally distributed exposure data. *American Industrial Hygiene Association. Journal, 1990, 51, pp. 416-419.*
- [23] NORDLINDER R. – Exposure to Benzene at different Work Places. *Advances in occupational Medicine and Rehabilitation. Pavia, Fondazione Salvatore Maugeri Edizioni, vol. 1, n° 2, May-August 1995, p. 1.*
- [24] SCHERER G., RENNERT T., MEGER M. – Analysis and evaluation of trans, trans-muconic acid as a biomarker for benzene exposure. *Journal of Chromatography B, 1998, 717, pp. 179-199.*
- [25] DUCOS P., GAUDIN R. – Muconic Acid in Urine, in: Update on Benzene. *Advances in Occupational Medicine and Rehabilitation. Pavia, Fondazione Salvatore Maugeri Edizioni, vol. 1, n° 2, May-August 1995, p. 189.*
- [26] MILLER J.C., MILLER J.N. – Statistics for Analytical Chemistry. *Chichester, Ellis Horwood, 1988, p. 118.*

## ANNEXE I

### DÉTERMINATION DE L'ACIDE *t,t*-MUCONIQUE URINAIRE. PROTOCOLE ANALYTIQUE

Les réactifs et matériels utilisés ont été décrits précédemment [18].

#### EXTRACTION URINAIRE

Elle est réalisée au moyen de colonnes d'extraction en phase solide (SPE), échangeuses d'anions (SAX, VARIAN®).

#### Conditionnement de la colonne d'extraction

- SAX (VARIAN®) : 2,8 ml, 500 mg.
- 2,8 ml de méthanol (environ 1 volume de la colonne), suivis de 2,8 ml d'eau purifiée (système MILLIPORE®, MILLI « Q » Plus), sont aspirés au travers de la colonne, par l'intermédiaire d'un système d'extraction permettant le traitement simultané de 20 échantillons, en appliquant un léger vide (10 mm de Hg).

#### Dépôt de l'échantillon urinaire

10 ml d'urine sont portés à pH 8-9, par l'ajout de quelques gouttes (environ 3) de NaOH 10N, puis 1 ml d'urine est déposé sur la colonne par l'intermédiaire de la mise sous vide ( $\approx$  10 mm de Hg).

#### Nettoyage de la colonne chargée

Il est effectué par le passage sur la colonne de 15 ml d'une solution aqueuse d'acide acétique (1 %, v/v).

#### Élution de l'acide *t,t*-muconique

2,8 ml d'une solution aqueuse d'acide acétique (10 %, v/v) appliqués sur la colonne permettent de décrocher l'acide *t,t*-muconique fixé sur la phase SAX. L'éluat est recueilli dans une fiole jaugée de 5 ml que l'on complète avec de l'eau purifiée.

#### ANALYSE PAR CLHP (chromatographie liquide haute performance)

L'extraction urinaire est suivie d'un dosage CLHP, avec détection dans l'ultra-violet (UV), en injectant la solution obtenue précédemment avec les conditions opératoires suivantes :

- 20  $\mu$ l injectés,
- durée d'analyse : 30 min,
- colonne analytique : Merck®, Lichrocart 125 mm, Lichrospher®, 5  $\mu$ m, RP18,
- éluant : eau (1 % acide acétique) – méthanol (80 – 20),
- débit : 0,4 ml/mn,
- détection UV,  $\lambda = 259$  nm, 0,05 AUFS.

Le dosage s'effectue par étalonnage externe réalisé avec des solutions aqueuses d'acide *t,t*-muconique.

Les performances de la méthode s'expriment par les critères de validation suivants, obtenus après analyse d'échantillons urinaires « dopés » avec de l'acide *t,t*-muconique (concentrations étalons allant de 0,05 à 2 mg/l).

#### Linéarité

La méthode est linéaire dans la gamme de concentration 0,05 – 2 mg/l ( $R^2 = 99,9$  %, test d'existence de pente significatif :  $p < 0,01$  et test d'adéquation du modèle « lack of fit » significatif :  $p > 0,10$ ).

#### Limite de détection (LD)

LD = 0,02 mg/l. Elle a été obtenue par la méthode de la droite de régression selon Miller and Miller [24] ; elle est l'équivalent, en concentration, de l'ordonnée à l'origine augmentée de 3 fois l'erreur résiduelle de la régression. La droite de régression a été construite avec 5 concentrations (0,05 ; 0,1 ; 0,5 ; 1 ; 2 mg/l) répétées 6 fois.

#### Fidélité

- Répétabilité : le coefficient de variation (CV) est de 10 % pour 0,05 mg/l et  $<$  à 4 % pour les autres concentrations : 0,1 ; 0,5 ; 1 et 2 mg/l ( $n = 6$ ).
- Reproductibilité inter-jours : le CV est  $<$  à 10 % pour 3 niveaux de concentrations (0,1 ; 0,5 et 2 mg/l) déterminées pendant 5 jours ( $n = 6$ ).

#### Rendement d'extraction

$>$  95 % pour les concentrations choisies (0,05 ; 0,1 ; 0,5 ; 1 et 2 mg/l).

## ANNEXE II

## PLAQUETTES INFORMATIVES DESTINÉES AUX MÉCANICIENS (\*)



(\*) Pour toute information concernant ces documents (références ED 871 et ED 872) : site Web : [www.inrs.fr](http://www.inrs.fr).

**INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHE ET DE SÉCURITÉ - 30, rue Olivier-Noyer, 75680 Paris cedex 14**

Tiré à part des Cahiers de notes documentaires - Hygiène et sécurité du travail, 3<sup>e</sup> trimestre 2002, n° 188 - ND n° 2174 - 1 000 ex. N° CPPAP 804/AD/PC/DC du 14-03-85. Directeur de la publication : J.-L. MARIÉ. ISSN 0007-9952 - ISBN 2-7389-1079-3

Imprimerie de Montligeon - 61400 La Chapelle Montligeon