



HAL
open science

Étude du passage placentaire d'un mélange de bisphénols sur le modèle de placenta humain perfusé

Pénélope Philbert

► **To cite this version:**

Pénélope Philbert. Étude du passage placentaire d'un mélange de bisphénols sur le modèle de placenta humain perfusé. Médecine vétérinaire et santé animale. 2021. dumas-04003433

HAL Id: dumas-04003433

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04003433v1>

Submitted on 24 Feb 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ETUDE DU PASSAGE PLACENTAIRE D'UN MELANGE DE BISPHENOLS SUR LE MODELE DE PLACENTA HUMAIN PERFUSE

THESE
pour obtenir le titre de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

PHILBERT Pénélope

Directrice de thèse : Mme Nicole HAGEN

JURY

PRESIDENT :

M. Roger LEANDRI

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSEESSEURES :

Mme Nicole HAGEN

Mme Véronique GAYRARD

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITEE :

Mme Clémence GELY

PhD à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

ETUDE DU PASSAGE PLACENTAIRE D'UN MELANGE DE BISPHENOLS SUR LE MODELE DE PLACENTA HUMAIN PERFUSE

THESE
pour obtenir le titre de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

PHILBERT Pénélope
Née le 20/12/1995 à BOULOGNE-BILLANCOURT (92)

Directrice de thèse : Mme Nicole HAGEN

JURY

PRESIDENT :

M. Roger LEANDRI

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSEESSEURES :

Mme Nicole HAGEN

Mme Véronique GAYRARD

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITEE :

Mme Clémence GELY

PhD à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Liste des directeurs/assesseurs de thèse de doctorat vétérinaire

Directeur : Professeur Pierre SANS

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie, thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et industrie des aliments d'origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, statistiques, modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la reproduction, endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie médicale animale et comparée*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et industrie des aliments*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, anatomie pathologique*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et thérapeutique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des ruminants*

PROFESSEURS 2^{ème} CLASSE

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation animale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, imagerie médicale*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
- M. **RABOISSON Didier**, *Médecine de population et économie de la santé animale*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la reproduction*
- Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale*
- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BRET Lydie**, *Physique et chimie biologiques et médicales*
- Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie, imagerie médicale*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Immunologie, bactériologie, pathologie infectieuse*
- Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **DIDIMO IMAZAKI Pedro**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- Mme **GRANAT Fanny**, *Biologie médicale animale*
- Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie, analgésie*
- M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des équidés*
- Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire, maladies animales réglementées*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

INGENIEURS DE RECHERCHE

- M. **AUMANN Marcel**, *Urgences, soins intensifs*
- M. **AUVRAY Frédéric**, *Santé digestive, pathogénie et commensalisme des entérobactéries*
- M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie des ruminants*
- M. **CROVILLE Guillaume**, *Virologie et génomique cliniques*
- Mme **DEBREUQUE Maud**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **DIDIER Caroline**, *Anesthésie, analgésie*
- Mme **DUPOUY GUIRAUTE Véronique**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
- Mme **GAILLARD Elodie**, *Urgences, soins intensifs*
- Mme **GEFFRE Anne**, *Biologie médicale animale et comparée*
- Mme **GRISEZ Christelle**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **JEUNESSE Elisabeth**, *Bonnes pratiques de laboratoire*
- Mme **PRESSANTI Charline**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **RAMON PORTUGAL Félipe**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
- M. **REYNOLDS Brice**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **ROUCH BUCK Pétra**, *Médecine préventive*

Remerciements

Aux membres du jury de thèse,

A Monsieur le Professeur Roger Léandri,

Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse,
Praticien Hospitalier au Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse
Biologie de la reproduction,

Qui m'a fait l'honneur d'être le Président de mon jury de thèse.
Hommage respectueux.

A Madame le Professeur Nicole Hagen-Picard,

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Pathologie de la Reproduction,

Pour m'avoir donné l'opportunité de participer à ce projet après quelques rebondissements,
Pour m'avoir encadré avec bienveillance,
Très sincères remerciements.

A Madame le Professeur Véronique Gayraud-Troy,

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Physiologie de la reproduction, Endocrinologie

Qui a accepté de faire partie de mon jury de thèse,
Pour m'avoir aiguillé sur mon choix de sujet de thèse,
Sincère reconnaissance.

A Madame Clémence Gély,

Doctorante UMR INRAE, ENVT InTheRes et équipe EXPER UMR TOXALIM

Qui a accepté de faire partie de mon jury de thèse,
Pour avoir gentiment répondu à mes questions,
Sincère reconnaissance.

Table des matières

Liste des illustrations	7
Liste des abréviations	9
Introduction	11
Etude bibliographique.....	12
I. Le BPA et ses analogues : secteurs d'utilisation, aspects réglementaires et propriétés physico-chimiques	12
I.1. Domaines d'utilisation du BPA et substitution par ses analogues.....	12
I.2. Réglementation relative au BPA et à ses analogues.....	16
I.3. Propriétés physico-chimiques des bisphénols	18
II. Exposition humaine au BPA et à ses analogues	21
II.1. Voies d'exposition aux bisphénols.....	21
II.2. Evaluation de l'exposition interne aux bisphénols	26
II.3. Exposition fœtale aux bisphénols et passage placentaire	33
Etude expérimentale.....	38
I. Matériels et méthodes	38
I.1 Placentas	38
I.2 Produits chimiques.....	39
I.3 Préparation des milieux de perfusion fœtal et maternel	40
I.4 Système <i>ex vivo</i> de perfusion placentaire en double circuit ouvert.....	41
I.5 Collecte des échantillons	43
I.6 Suivi des paramètres de perfusion	44
I.7 Dosage de l'antipyrine.....	44
I.8 Dosage des 15 bisphénols.....	45
II. Analyse des données	46
II.1 Calcul des paramètres de perfusion materno-fœtale.....	46
II.2 Analyse statistique	47
III. Résultats	47
IV. Discussion	51
BIBLIOGRAPHIE	57

Liste des illustrations

<i>Figure 1 : Secteurs d'utilisation des plastiques de type polycarbonate.</i>	<i>13</i>
<i>Figure 2 : Secteurs d'utilisation des résines époxy, sur base de données de Plastic Europe 2007 (INERIS 2010) (ANSES 2013a)</i>	<i>14</i>
<i>Figure 3 : Structures chimiques du BPA et de 14 de ses analogues structuraux</i>	<i>19</i>
<i>Figure 4 : Fréquence de détection du BPA dans différents échantillons alimentaires en fonction du type d'aliment et de conditionnement. Aliments provenant de boîtes de conserves : légumes (n=39), fruits (n=9), viande (n=38), poisson (n=12), produits laitiers (n=8). Aliments conservés dans d'autres types de contenants : légumes (n=24), fruits (n=12), viande (n=15), poisson (n=4), produits laitiers (n=18). Echantillons alimentaires issus de grandes surfaces au Texas, prélevés en 2010 (d'après Lorber et al. 2015).</i>	<i>22</i>
<i>Figure 5 : Moyenne géométrique (GM) des concentrations urinaires totales (µg/L) en BPA, BPF et BPS issues de 616 prélèvements urinaires dans la population générale adulte à Atlanta (Etats-Unis) entre 2000 et 2014. Source : Ye et al. 2015.....</i>	<i>31</i>
<i>Figure 6 : Valeurs (moyenne et étendue) des concentrations sériques en BPA libre rapportées par différentes études entre 1999 et 2012 et publiées par le rapport d'expertise collective de l'Anses en 2013.</i>	<i>32</i>
<i>Figure 7 : Circulation foetale et maternelle au niveau du placenta. Source : la circulation foetale. Unité foeto-placentaire Dr André Gwenaëlle</i>	<i>35</i>
<i>Figure 8 : Face maternelle du cotylédon perfusé dans la chambre thermostatée. La décoloration du cotylédon permet de s'assurer de l'efficacité de la perfusion</i>	<i>42</i>
<i>Figure 9 : Schéma du système de perfusion ex-vivo en double circuit ouvert. Les circulations maternelle et foetale sont recréées expérimentalement grâce à la circulation du milieu de Earle. Une pompe péristaltique a permis d'assurer la circulation de la solution de perfusion foetale à un débit de 6mL/min. Deux débitmètres placés au niveau de l'artère (1) et de la veine (2) choriales représentées en rouge permettaient de vérifier l'équilibre des pressions artérielle et veineuse sur le circuit. Une deuxième pompe péristaltique a permis d'obtenir un débit de 12mL/min dans la circulation maternelle, contenant le mélange de bisphénols (BPs) et l'antipyrine, et dont la pression a été vérifiée par un débitmètre placé à l'entrée du cotylédon. L'exsudat maternel a été collecté via un système de pompe aspirante.</i>	<i>43</i>

<i>Figure 10 : Taux de transfert placentaire materno-foetal moyens des 15 bisphénols perfusés en mélange sur les 5 placentas au cours de la période d'équilibre de la perfusion.</i>	<i>50</i>
<i>Figure 11 : Indices de clairance placentaire des 15 bisphénols (moyenne sur les 5 placentas perfusés ± écart type). Deux groupes ont été identifiés : en gris les bisphénols dont le taux de transfert n'était pas significativement différent de celui de l'antipyrine, en bleu ceux dont le taux de transfert était significativement plus faible que celui de l'antipyrine.</i>	<i>51</i>
<i>Figure 12 : Moyennes des indices de clairances (IC) des 15 bisphénols obtenus sur les cinq perfusions en mélange et leur coefficient de partage octanol-eau respectif normalisé (LogP).....</i>	<i>53</i>
<i>Tableau 1 : Propriétés physico-chimiques des 15 bisphénols étudiés : poids moléculaire (Da), coefficient de partage octanol/eau (log P), constante d'acidité (pKa) et fraction libre (%).....</i>	<i>20</i>
<i>Tableau 2 : Concentrations urinaires en BPA total de cohortes issues de différentes études chez des populations adultes. N = taille de l'échantillon, F = fréquence de détection (%), C = concentration médiane ou moyenne géométrique (µg/L), LOD/LOQ = limite de détection/limite de quantification (µg/L)</i>	<i>28</i>
<i>Tableau 3 : Concentrations urinaires en BPS total de cohortes issues de différentes études chez des populations adultes. N = taille de l'échantillon, F = fréquence de détection (%), C = concentration médiane ou moyenne géométrique (µg/L), LOD/LOQ = limite de détection/limite de quantification (µg/L)</i>	<i>29</i>
<i>Tableau 4 : Concentrations urinaires en BPF total de cohortes issues de différentes études chez des populations adultes. N = taille de l'échantillon, F = fréquence de détection (%), C = concentration médiane ou moyenne géométrique (µg/L), LOD/LOQ = limite de détection/limite de quantification (µg/L)</i>	<i>30</i>
<i>Tableau 5 : Concentrations nominales finales (en µg/mL) des 15 bisphénols dans le milieu de perfusion maternel</i>	<i>41</i>
<i>Tableau 6 : Moyennes et écart-types des taux de transferts placentaires (%), clairances placentaires (ml/min) et indices de clairance des 15 bisphénols perfusés en mélange sur 5 placentas</i>	<i>49</i>

Liste des abréviations

3-3BPA : 3-3 Bisphénol A

ANSES : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail

BP4-4' : Bisphénol 4-4'

BPA : Bisphénol A

BPAF : Bisphénol AF

BPAG : Bisphénol A glucuronide

BPAP : Bisphénol AP

BPB : Bisphénol B

BPBP : Bisphénol BP

BPC : Bisphénol C

BPE : Bisphénol E

BPF : Bisphénol F

BPFL : Bisphénol FL

BPM : Bisphénol M

BPP : Bisphénol P

BPS : Bisphénol S

BPSG : Bisphénol S glucuronide

BPZ : Bisphénol Z

BSA : Albumine sérique bovine

Cl : Clairance placentaire

CLP : Classification, Labelling and Packaging

DJT : Dose journalière tolérable

ECHA : European Chemicals Agency

EFSA : European Food Safety Agency

ESTEBAN : Etude de Santé sur l'Environnement, la Biosurveillance, l'Activité Physique et la Nutrition

HBM-1 : Human biomonitoring value

IC : Indice de clairance

LC : chromatographie liquide

LMS : Limite de migration spécifique

LOD : Limite de détection

LOQ : Limite de quantification

Log P : Coefficient de partage octanol-eau

MG : Moyenne géométrique

MS : Spectrométrie de masse

MRM : Multiple reaction monitoring

NOAEL: No Observed Adverse Effect Level

NTP : Programme national de toxicologie

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P95 = 95ème percentile

PC : Polycarbonate

QSAR : Quantitative Structure-Activity Relationship

TTf : Taux de transfert

UHPLC : chromatographie liquide ultra-haute performance

UV : Ultra-violet

Introduction

Les bisphénols sont des composés entrant dans la fabrication industrielle des plastiques en polycarbonate, un plastique rigide et transparent employé pour fabriquer des récipients alimentaires (bouteilles, biberons, etc.) et en tant qu'additif des résines époxy (revêtement intérieur des boîtes de conserve et canettes, cuves de stockage d'aliment ou de boisson) (HORIZON2020 Programme 2020). Ils peuvent migrer en petite quantité des contenants alimentaires vers les denrées alimentaires. Les bisphénols sont également utilisés comme révélateurs de pigments dans les papiers thermiques. On les retrouve dans de nombreuses applications non alimentaires telles que les peintures, les mastics dentaires, les revêtements de surface, etc. Ces bisphénols sont alors retrouvés dans les poussières d'intérieur. Ainsi, l'homme peut être exposé aux bisphénols, essentiellement par voie orale et de manière plus limitée par voie cutanée et par inhalation (HORIZON2020 Programme 2020).

Reconnu en 2013 comme perturbateur endocrinien par l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES), le bisphénol A (BPA) a été interdit dans les emballages alimentaires à partir de 2015. Son utilisation est donc restreinte, et le BPA a progressivement été remplacé par d'autres molécules dont des analogues structuraux, notamment le bisphénol S (BPS), le bisphénol F (BPF) et le bisphénol AF (BPAF). En raison du manque de données toxicologiques sur ces bisphénols émergents, il est difficile de prédire les risques sanitaires liés à la substitution du BPA. Néanmoins, des données toxicologiques ont permis de montrer que ces analogues structuraux présentaient une activité oestrogénique, ce qui indique qu'ils pourraient présenter un potentiel perturbateur endocrinien similaire à celui du BPA (ANSES 2013a). Dès 2013, l'ANSES met en garde contre l'utilisation des analogues du BPA et appelle à une grande précaution quant à leur utilisation.

La période fœtale est considérée comme une période particulièrement à risque, en raison de la sensibilité accrue du fœtus à des interférences hormonales pendant son développement. Afin de prédire les effets délétères des bisphénols sur le développement fœtal et les conséquences sur l'enfant à naître, il est nécessaire de déterminer si ces molécules sont capables de passer la barrière placentaire et d'évaluer quantitativement leur transfert placentaire.

Le but de cette étude est d'évaluer l'exposition foetale aux bisphénols pendant la période à risque de la gestation. Afin de répondre à cet objectif, une partie bibliographique fait le point sur l'utilisation des bisphénols dans l'industrie, leur réglementation et sur l'exposition humaine aux bisphénols, à travers la synthèse d'études de biosurveillance. Les propriétés physico-chimiques de ces molécules, notamment celles qui peuvent influencer le transfert placentaire, sont récapitulées. Dans une deuxième partie, est présentée l'étude expérimentale sur le passage placentaire de 15 bisphénols en mélange, évalué sur le modèle *ex-vivo* de placenta humain perfusé, réalisée au sein de l'équipe EXPER (Exposition aux Perturbateurs Endocriniens, Reproduction et métabolisme) de l'UMR 1331 Toxalim. Les résultats sont présentés et discutés.

Etude bibliographique

I. Le BPA et ses analogues : secteurs d'utilisation, aspects réglementaires et propriétés physico-chimiques

I.1. Domaines d'utilisation du BPA et substitution par ses analogues

Synthétisé pour la première fois en 1889 comme œstrogène synthétique pour des applications à visée contraceptive, le BPA a été utilisé dès 1940 dans la fabrication de résines époxy. Il a été commercialisé dans l'industrie du plastique en polycarbonate dès 1957 aux États-Unis et un an plus tard en Europe (Almeida et al. 2018; Usman 2016).

En 2008, la production mondiale annuelle de BPA atteignait les 5,2 millions de tonnes (Björnsdotter, de Boer, Ballesteros-Gómez 2017). En 2020, les États-Unis, le Canada, le Japon, la Chine et l'Europe représentaient une taille de marché de 1,5 million de tonnes de BPA (RESEARCHANDMARKETS 2020). Le marché le plus important est celui de l'Asie du Nord-Est, qui représente à lui seul 50% du volume total, suivi de l'Europe et de l'Amérique.

Le BPA est une molécule entrant dans la composition des plastiques en polycarbonate, qui représentent 64% de son volume total de production (Almeida et al. 2018; ANSES 2013b). Le plastique en polycarbonate est utilisé dans deux grandes industries : la construction et l'automobile. Outre ces deux grands secteurs, il entre dans la fabrication de nombreux produits de consommation courante tels que les

équipements de sport, les médias optiques (CD et DVD) et les domaines de l'électricité et de l'électronique (boîtiers, isolateurs, etc.). Ce type de plastique est aussi utilisé pour fabriquer des emballages alimentaires, tels que les bouteilles, ustensiles de microondes et autres contenants en plastiques réutilisables. Environ 3% du polycarbonate produit est amené à être en contact avec des denrées alimentaires (Almeida et al. 2018). L'ensemble des secteurs d'utilisation des polycarbonates et leur importance respective sont représentés sur la Figure 1.

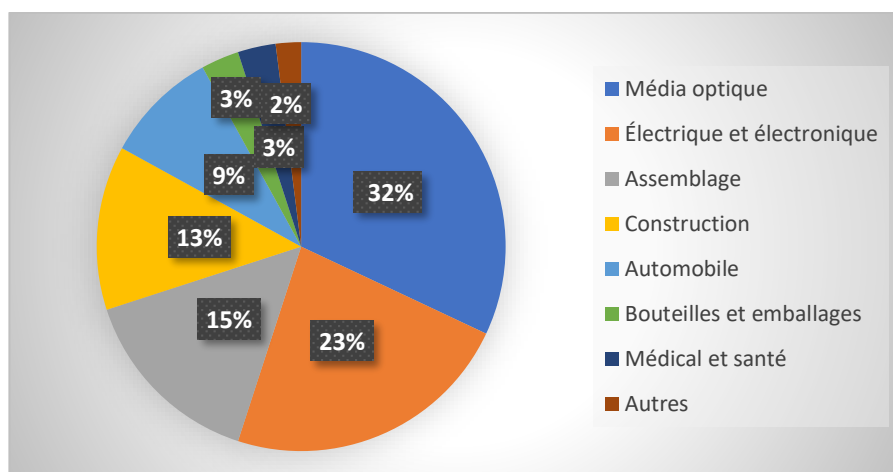


Figure 1 : Secteurs d'utilisation des plastiques de type polycarbonate. Données issus d'INERIS (2010). Source : ANSES 2013b

La production de résines époxy constitue le second grand domaine d'utilisation du BPA, qui représente un tiers de sa production globale (ANSES 2013b). Les résines époxy sont utilisées comme revêtement intérieur des canettes et des boîtes de conserve afin de prévenir la corrosion du métal au contact des aliments, ainsi que dans les canalisations. Environ 10% des résines époxy produites sont amenées à être en contact avec les denrées alimentaires (Almeida et al. 2018). Ces résines sont également utilisées en dentisterie, et dans le vernis ou la peinture. L'ensemble des secteurs d'utilisation des résines époxy et leur importance respective sont représentés sur la Figure 2.

Le BPA sert également de révélateur d'encre dans les papiers thermiques : tickets de caisse, de transport et parking, carte d'embarquement, journaux etc. Entre 2005 et 2006, 1890 tonnes de BPA ont été utilisées dans les papiers thermiques (Björnsdotter, de Boer, Ballesteros-Gómez 2017).

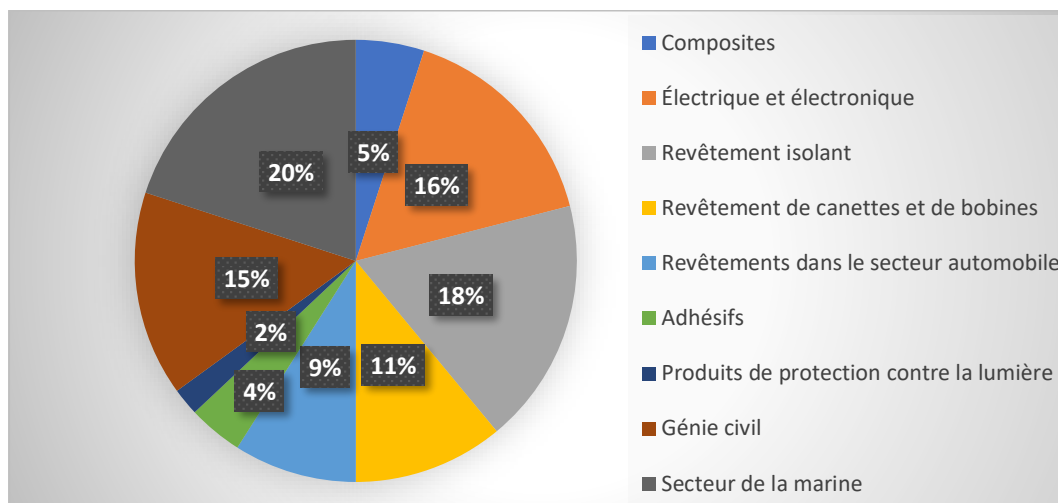


Figure 2 : Secteurs d'utilisation des résines époxy, sur base de données de Plastic Europe 2007 (INERIS 2010) (ANSES 2013a)

Le BPA est un sujet de polémique depuis de nombreuses années. L'évaluation des effets chroniques du BPA sur la reproduction et sa toxicité systémique sur plusieurs générations de rongeurs a permis d'estimer une NOAEL (dose sans effet nocif observable) de 50 mg/kg/jour (Tyl et al. 2008). Ces résultats ont permis de déterminer une dose journalière tolérable (DJT) de 50 µg/kg, en prenant un facteur de sécurité de 1000. A contrario, des études indépendantes de l'industrie plastique ont rapporté des effets à faibles doses, notamment en dessous de la DJT de 50 µg/kg/j, sur des modèles animaux et *in vitro* (vom Saal, Hughes 2005; vom Saal, Welshons 2006). Ces résultats ont entraîné de fortes divergences dans la communauté scientifique concernant la validité des modèles permettant de mettre en évidence les effets du BPA à faibles doses. En 2008, le Programme national de toxicologie (NTP) a publié une revue sur les effets du BPA sur la fonction de reproduction et le développement, et a conclu que les effets du BPA étaient préoccupants (Shelby 2008). Ces travaux ont conduit à une réévaluation de la DJT par l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA), qui a été fixée temporairement à 4 µg/kg.

Compte tenu des divergences scientifiques et par principe de précaution, plusieurs pays ont mis en place des restrictions sur l'utilisation du BPA. C'est le Canada qui classe en premier le BPA au rang des substances dangereuses en 2008. Débutera alors une suite de rapports accablants et de restrictions concernant son utilisation. Depuis 2013, le BPA a en effet été reconnu comme perturbateur endocrinien par l'Anses. En juin 2017, l'Agence européenne des produits chimiques (ECHA) a identifié le BPA comme « substance extrêmement préoccupante pour la santé humaine et

l'environnement, en raison de ses propriétés perturbant le système endocrinien et pouvant avoir des effets graves sur la santé humaine ».

Afin de répondre aux inquiétudes des consommateurs et de respecter les restrictions sur l'utilisation du BPA, les industriels ont cherché des alternatives. Ainsi, le BPA a été peu à peu remplacé par d'autres molécules, parmi lesquelles on retrouve certains de ses analogues structuraux. Cependant, peu de données toxicologiques sont aujourd'hui disponibles. Le Bisphénol S (BPS), le Bisphénol F (BPF) et le Bisphénol AF (BPAF) font partie des principaux substituts au BPA dans la fabrication des plastiques en polycarbonates et résines époxy (Usman 2016).

Le BPS est le substitut principal au BPA dans la fabrication des papiers thermiques. Il fut synthétisé en tant que colorant en 1869 pour la première fois, et est introduit dans les tickets de caisse en 2006 (Usman 2016). Selon une étude de l'ECHA publiée en 2020, le BPS a remplacé le BPA dans 37% des papiers thermiques (soit 187 kilotonnes) en 2019 sur le marché Européen. Ce chiffre devrait atteindre 61% (soit 307 kilotonnes) d'ici 2022 (ECHA 2020). Selon la même étude, la production et l'importation du BPS dans l'Union Européenne varie de 1000 à 10 000 tonnes par an. Outre sa substitution au BPA dans les papiers thermiques, le BPS est utilisé principalement dans la fabrication de résines polyéthersulfones, en remplacement des résines polycarbonates, entrant dans la composition de biberons et de vaisselle pour enfants.

Le BPF possède un large éventail d'applications industrielles. Il est utilisé dans la fabrication de résines époxy et de polycarbonates, en remplacement du BPA (Usman 2016). Sa production/importation ne dépasse cependant pas 100 tonnes par an dans l'Union Européenne. Il est utilisé dans différents types d'applications tels que les revêtements pour emballages alimentaires (hors UE), les plastiques adhésifs, les vernis ou encore les prothèses dentaires (Chen et al. 2016). Le BPF a aussi la particularité d'être retrouvé à l'état naturel dans les plantes comme la moutarde (Beausoleil 2021).

Le Bisphénol B (BPB) a été identifié comme entrant dans la composition de résines phénoliques utilisées dans les secteurs de l'automobile, de l'électronique et du bâtiment, selon une enquête de filière menée par l'Anses (Usman 2016; ANSES 2013b). Il est utilisé comme substitut au BPA dans des usages tels que les

revêtements et polymères en contact avec les aliments dans certains pays hors Union Européenne comme aux Etats-Unis (INERIS 2021).

Le BPAF est utilisé comme substitut au BPA dans des domaines tels que ceux de l'électronique et de la fibre optique, ou encore dans la synthèse de polymères de haute performance, dont certains sont susceptibles d'être en contact avec les aliments. Sa production annuelle a été estimée allant de 4 tonnes à plus de 226 tonnes aux Etats-Unis entre 1986 et 2002 (Usman 2016; Chen et al. 2016).

I.2. Règlementation relative au BPA et à ses analogues

L'utilisation du BPA a fait l'objet d'un encadrement juridique croissant (INERIS [2020]) :

- Interdiction de fabrication et d'importation de biberons produits à partir de polymères de BPA depuis Juin 2011 en Europe.
- Interdiction du BPA dans les conditionnements, contenants ou ustensiles destinés à être en contact avec les aliments en France, applicable dès Janvier 2015.
- Abaissement de la DJT de 50 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ à 4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ en 2015 (European Food Safety Authority 2015a).
- Identification du BPA comme « substance extrêmement préoccupante pour la santé humaine et l'environnement, en raison de ses propriétés perturbant le système endocrinien et pouvant avoir des effets graves sur la santé humaine » par l'ECHA en Juin 2017.
- Limitation de la migration du BPA dans ou sur les denrées alimentaires depuis le vernis ou le revêtement appliqué sur les matériaux et objets à une valeur maximale appelée « limite de migration spécifique » (LMS), fixée à 0,05 mg de BPA par kg de denrée alimentaire, dès Septembre 2018 dans l'Union Européenne (Santé publique France [2019]). Cette valeur était depuis 2011 fixée à 0,6 mg/kg.
- Interdiction du BPA dans les contenants et ustensiles susceptibles d'entrer en contact avec les denrées alimentaires destinés aux nourrissons et enfants en bas âge depuis Septembre 2018 en Europe (INERIS [2020]).
- Depuis 2018, fixation d'une limite de migration de 0,04 mg/L pour le BPA dans les jouets produits en Europe (Santé publique France [2019]).

- Limitation du poids du BPA dans la fabrication des papiers thermiques à moins de 0,02% depuis Janvier 2020 sur le marché Européen (Santé publique France [2019]).
- Inscription sur la liste de produits ne devant pas entrer dans la composition des cosmétiques (Santé publique France [2019]).

Le BPA est inscrit au règlement REACH (Enregistrement, évaluation et autorisation des substances chimiques), qui liste les substances pour lesquelles une autorisation est nécessaire pour une mise sur le marché au sein de l'Union Européenne. Le règlement REACH prévoit que, pour une substance fabriquée ou importée dans une quantité supérieure ou égale à une tonne par an, les fabricants doivent compiler un dossier technique sur les propriétés physico-chimiques et des études toxicologiques pour évaluer sa potentielle toxicité sur la santé humaine et sur l'environnement. Pour une substance fabriquée ou importée dans une quantité supérieure ou égale à 10 tonnes par an, comme le BPA, une évaluation de la sécurité chimique doit être effectuée et documentée dans un rapport. Tout fournisseur d'articles contenant plus de 1% d'une substance inscrite sur ce règlement a une obligation de renseignement envers les consommateurs. Depuis mars 2018, le bisphénol A est classé dans la catégorie 1B du règlement CLP (Classification, Labelling and Packaging) en tant que substance « présumée toxique pour la reproduction ». A ce jour, les autres bisphénols sont très peu identifiés et mentionnés dans la réglementation. Seuls le BPS, le BPAF et le Bisphénol M (BPM) sont inscrits dans cette catégorie du règlement CLP.

Une étude sur le BPS en tant que substitut au BPA dans la fabrication des papiers thermiques est actuellement menée par l'ECHA. Cette étude a notamment pour but de définir si le BPS présente un risque pour la santé humaine. Dans le cas où un risque serait identifié, l'utilisation du BPS dans les papiers thermiques pourrait être restreinte. Par ailleurs, suite à des travaux menés par l'Anses ayant montré que le BPB présentait des propriétés perturbatrices endocriniennes similaires au BPA, ce dernier a été ajouté à la liste des substances extrêmement préoccupantes candidates à la réglementation REACH en Juillet 2021 (INERIS 2021).

En Europe, le bisphénol S et le bisphénol 4-4'diol (BP4-4') sont autorisés dans les matières plastiques et articles destinés à être en contact avec les aliments. Leur limite de migration spécifique (LMS) sont fixées à 0,05 mg/kg et 6 mg/kg d'aliment, respectivement (INERIS 2020; Commission Européenne 2011). Les autres bisphénols

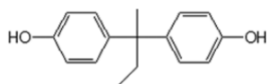
ne sont pas cités et sont donc interdits dans les matières plastiques et articles destinés à être en contact avec les aliments. Par exemple, l'utilisation du BPF dans les résines époxy utilisées comme revêtements dans l'industrie alimentaire n'est autorisée en Europe que pour les réservoirs de stockage dont le contenu dépasse 10 000 litres, mais pas pour le revêtement des boîtes de conserve. La substance est préenregistrée dans l'Annexe III du règlement REACH et une analyse des risques vis à vis de ses éventuels effets de perturbation endocrinienne est en cours.

I.3. Propriétés physico-chimiques des bisphénols

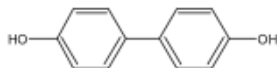
Les bisphénols sont des composés aromatiques caractérisés par deux groupements phénols liés par un pont méthyle, à l'exception du BPS (pont sulfure) et du BP4-4' (liaison directe) (Figure 3). Leur diversité structurale est liée à la possibilité d'ajouter des substituants sur les cycles aromatiques et également de substituer ou modifier le pont carbonate liant les deux phénols.

La Figure 3 présente la structure chimique du BPA et de 14 analogues structuraux : le bisphénol B (BPB), le bisphénol 4-4'diol (BP4-4'), le bisphénol F (BPF), le bisphénol E (BPE), le bisphénol S (BPS), le 3-3' bisphénol A (3-3'BPA), le bisphénol Z (BPZ), le bisphénol C (BPC), le bisphénol AF (BPAF), le bisphénol P (BPP), le bisphénol M (BPM), le bisphénol BP (BPBP), le bisphénol FL (BPFL) et le bisphénol AP (BPAP).

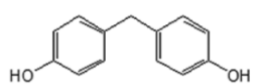
Bisphénol B (BPB)
2,2-bis
(4-hydroxyphényl)
butane



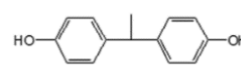
Bisphénol 4-4'-diol (BP4-4')
Biphényl-4,4'-diol



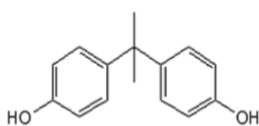
Bisphénol F (BPF)
4,4'-méthylène
diphénol



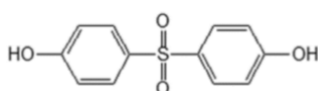
Bisphénol E (BPE)
4,4'-éthylidène
bisphénol



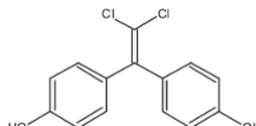
Bisphénol A (BPA)
2,2bis
(4-hydroxyphényl)
propane



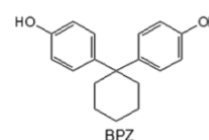
Bisphénol S (BPS)
4-hydroxyphényl
sulfone



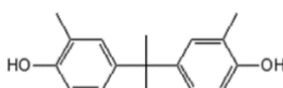
Bisphénol C (BPC)
Bis(4-hydroxyphényl)
2-2-dichlorethylène



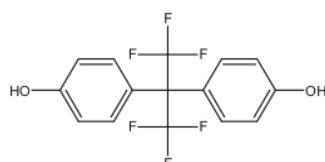
Bisphénol Z (BPZ)
4,4'-
cyclohexylidène
bisphénol



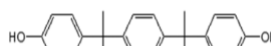
3-3'Bisphénol A (3-3'BPA)
2,2-bis
(4-hydroxy-3-
méthylphényl)
propane



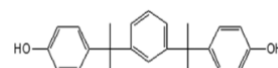
Bisphénol AF (BPAF)
4,4'-hexafluoroiso-
propylidène)
diphénol



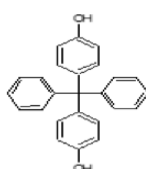
Bisphénol P (BPP)
4,4'-(1,4-phenylène
diisopropylidène)
bisphénol



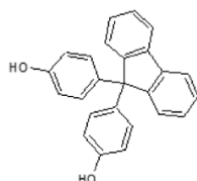
Bisphénol M (BPM)
4,4'-(1,3-
phenylène
diisopropylidène)
bisphénol



Bisphénol BP (BPBP)
bis(4-
hydroxyphényl)
diphénylméthane



Bisphénol FL (BPFL)
9-9'Bis(4-
hydroxyphényl)
fluorène



Bisphénol AP (BPAP)
4,4'-(1-
phényléthylidène)
bisphénol

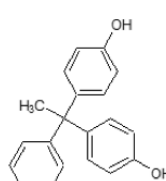


Figure 3 : Structures chimiques du BPA et de 14 de ses analogues structuraux

Malgré leur analogie structurale, ces substances peuvent présenter des propriétés physiques et chimiques différentes. Le Tableau 1 synthétise les principales caractéristiques physico-chimiques des bisphénols étudiés qui peuvent influencer leur biodistribution, et en particulier leur passage placentaire. Les bisphénols sont des molécules de faible poids moléculaire (inférieur à 500 Da). Ils présentent une faible solubilité dans l'eau et leur solubilité dans les solvants organiques est dépendante de leurs substituants. Les plus lipophiles sont le BPM et le BPP avec un coefficient de partage octanol/eau (logP) de 7, alors que le BPS est le moins lipophile, présentant un logP de 2,15. Leurs constantes d'acidité (pKa) sont supérieures à 9, excepté pour le BPAF et le BPS, signifiant qu'ils se trouvent essentiellement sous forme non ionisée à pH physiologique (7,4). La fraction libre des bisphénols correspond à la fraction non liée aux protéines plasmatiques. Des modèles de prédiction *in silico* ont montré que la fraction libre des bisphénols variait de 0,98% pour le BPM à 13,23% pour le BPS (Grumetto, Barbato, Russo 2019).

Tableau 1 : Propriétés physico-chimiques des 15 bisphénols étudiés : poids moléculaire (Da), coefficient de partage octanol/eau (log P), constante d'acidité (pKa) et fraction libre (%)

Source : Chemicaliza.org by ChemDraw, Gély et al. 2021

Numéro CAS = Chemical Abstracts Service Number

Fraction libre : fraction non liée aux protéines plasmatiques (Grumetto, Barbato, Russo 2019)

Bisphénols	Numéro CAS	Poids moléculaire (Da)	LogP	pKa	Fraction libre (%)
BPA	80-05-7	228,12	3,32	9,52	4,09
BP4-4'	92-88-6	186,07	2,52	9,45	
BPAF	1478-61-1	336,06	5,02	8,90	1,10
BPAP	1571-75-1	290,13	5,00	9,36	
BPB	77-40-7	242,13	4,44	9,49	3,21
BPBP	1844-01-5	352,15	6,02	9,21	
BPC	14868-03-2	280,01	3,95	9,23	
BPE	2081-08-5	214,10	3,18	9,59	5,82
BPF	620-92-8	200,08	2,91	9,66	7,58
BPM	13595-25-0	346,19	7,04	9,47	0,98
BPP	2167-51-3	346,19	7,04	9,49	
BPS	80-09-1	250,03	2,15	8,44	13,23
BPZ	843-55-0	268,15	5,00	9,45	
3-3'BPA	79-97-012	256,15	4,81	9,74	
BPFL	3236-71-3	350,13	5,59	9,14	

En définitive, les restrictions sur le BPA ont conduit à la mise sur le marché de nouveaux types de bisphénols, mais les données sur leur utilisation industrielle manquent encore. Les études montrent que leur utilisation est globalement en augmentation, mais le BPA reste à ce jour le bisphénol le plus important en termes de volume de production. Le BPS et le BPF apparaissent comme les deux principaux substituts du BPA. Ces données montrent le champ d'application extrêmement large des bisphénols ainsi que leur présence dans de nombreux produits de consommation courante, notamment destinés à entrer au contact des denrées alimentaires. On peut donc s'interroger sur l'exposition humaine à ces bisphénols et sur leur contribution relative. D'autre part, les différences de caractéristiques physico-chimiques entre ces bisphénols émergents pourraient se traduire par des propriétés toxicocinétiques différentes, déterminant leur potentiel d'exposition.

II. Exposition humaine au BPA et à ses analogues

II.1. Voies d'exposition aux bisphénols

Il existe différentes voies d'exposition externe aux bisphénols. La source principale d'exposition est la voie alimentaire, en raison de la migration des bisphénols présents dans les emballages en polycarbonate ou recouverts de résine époxy, vers les aliments et boissons consommés (HORIZON2020 Programme). Deux autres voies d'exposition aux bisphénols ont également été identifiées. Il s'agit de la voie cutanée, par contact avec les papiers thermiques et l'utilisation de produits d'hygiène, et de la voie par inhalation d'air ou de poussières contaminés.

Selon un rapport d'expertise publié par l'Anses en 2013 portant sur l'évaluation de l'exposition de la femme enceinte au BPA, 84% de l'exposition proviendrait de l'alimentation tandis que l'inhalation d'air contaminé ou l'ingestion de poussières ne contribueraient qu'à 16% de la dose interne (ANSES 2013b). Une étude de Santé Publique France a obtenu des données similaires, avec l'air intérieur qui représente moins de 10% de l'exposition externe de la population (Santé publique France [2019]).

II.1.1 Evaluation de l'exposition alimentaire

L'alimentation est considérée comme la principale voie d'exposition au BPA, représentant 80% de l'exposition totale, suite à la migration du BPA du contenant vers le contenu (Usman 2016; Santé publique France 2019). Ainsi, de nombreuses études ont mesuré les concentrations en BPA dans les aliments, et dans une moindre mesure

celles de certains de ses analogues. Les emballages alimentaires les plus contributeurs sont les boîtes de conserve et canettes ainsi que tous les emballages plastiques en polycarbonate (film plastique, boîte en plastique *etc.*).

Les produits conditionnés en boîtes de conserve sont systématiquement plus contaminés que les aliments frais et surgelés et participeraient à près de 50% de l'exposition alimentaire (Santé publique France [2019]). En 2010, 204 échantillons de produits alimentaires issus de grandes surfaces au Texas ont été collectés et analysés (Lorber et al. 2015). Cette étude a mis en évidence la présence de BPA dans 73% des échantillons provenant des aliments en conserve, contre 7% dans les aliments contenus dans un autre type d'emballage. Il semble également que la fréquence de contamination soit variable en fonction du type d'aliment (Figure 4). Par exemple, parmi les aliments en conserve, les légumes sont les plus fréquemment contaminés (92,6%), suivis de la viande (81,5%) et du poisson (57,7%). Le BPA n'a pas été détecté dans les produits laitiers, quel que soit le type d'emballage.

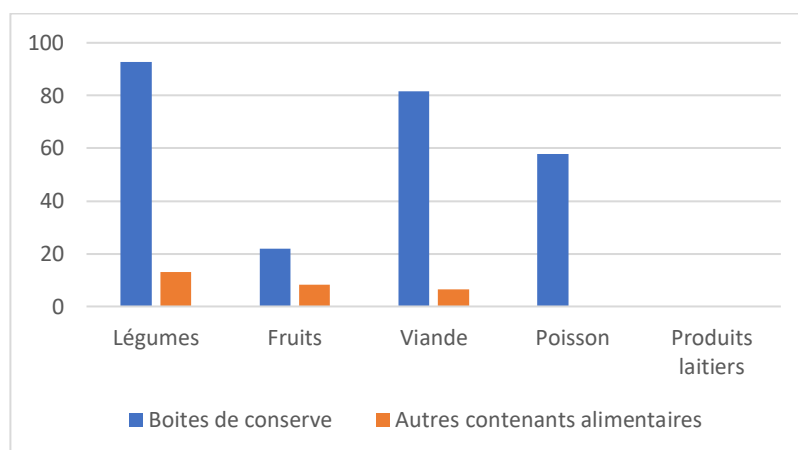


Figure 4 : Fréquence de détection du BPA dans différents échantillons alimentaires en fonction du type d'aliment et de conditionnement. Aliments provenant de boîtes de conserves : légumes (n=39), fruits (n=9), viande (n=38), poisson (n=12), produits laitiers (n=8). Aliments conservés dans d'autres types de contenants : légumes (n=24), fruits (n=12), viande (n=15), poisson (n=4), produits laitiers (n=18). Échantillons alimentaires issus de grandes surfaces au Texas, prélevés en 2010 (d'après Lorber et al. 2015).

Il a été montré que la migration des bisphénols vers les aliments et boissons augmentait avec le temps de stockage et l'élévation de la température (Santé publique France 2019). Ceci peut expliquer pourquoi les teneurs en BPA les plus hautes sont retrouvées dans les produits conditionnés en boîtes de conserve, exposés à de hautes températures au moment de la pasteurisation et pouvant être stockés sur de longues périodes. La différence de contamination en fonction du type de produits pourrait par

ailleurs être attribuée au pH des aliments, puisque la diminution du pH d'une solution serait associée à l'augmentation de la migration des bisphénols (Santé publique France 2019).

Certains aliments non conditionnés peuvent aussi représenter une source d'exposition au bisphénol. En effet, une étude menée en France sur des aliments qui ne sont ni mis en conserve ni emballés dans du plastique (levure de boulanger, fromage, pain, céréales) a montré que le BPA était détecté à de faibles concentrations (Almeida et al. 2018). Les principales sources de contamination ont été identifiées comme étant dues au matériel de stockage intervenant au cours du processus de production (fabriqué à partir de résine époxy ou de polycarbonate) et au papier utilisé comme emballage.

Même si le BPA reste le bisphénol prédominant, représentant 42% de la concentration totale en bisphénols (Usman 2016), des études récentes mettent en évidence la présence d'autres bisphénols dans des produits alimentaires issus de différents pays (Chen et al. 2016, Usman 2016 ; Russo et al. 2019). Dès 2013, le BPF est apparu comme l'analogue le plus abondant dans différents produits alimentaires aux Etats-Unis, avec une concentration moyenne de 0,93 ng/g, trois fois inférieure à la concentration en BPA (3 ng/g) (Chen et al. 2016). Dans cette étude, le BPF représente 17% de la concentration totale en bisphénols dans les produits alimentaires. Les BPP, BPS, BPZ, BPAF, BPAP, BPB, et BPE ont également été retrouvés dans certains échantillons, mais leur contribution est largement minoritaire par rapport au BPA (Chen et al. 2016). En 2019, l'analyse de bières en canette en Italie a par exemple mis en évidence que les deux bisphénols détectés le plus fréquemment et aux concentrations les plus élevées correspondaient au BPAF et au BPM (Russo et al. 2019).

L'ensemble de ces données démontre la substitution progressive du BPA par ses analogues dans la fabrication des contenants alimentaires et justifie le besoin de données toxicologiques pour ces nouvelles molécules auxquelles le consommateur est exposé via son alimentation.

II.1.2 Evaluation de l'exposition cutanée

L'exposition cutanée aux bisphénols est due à la manipulation des papiers thermosensibles tels que les tickets de caisse et de façon plus limitée aux produits cosmétiques.

En effet, le BPA est utilisé comme révélateur d'encre dans la fabrication des papiers thermiques. Ainsi, le BPA a été retrouvé dans 94% des tickets de reçu bancaire et des billets de banque, tickets de bus, magazines, etc récoltés entre 2010 et 2011. Les reçus bancaires sont ceux qui contiennent le plus de BPA avec une concentration maximale de 13,9 mg/g (Etats-Unis) (Liao, Kannan 2011). La moyenne géométrique sur 103 tickets collectés aux Etats-Unis et en Asie se situe à 0,211 mg de BPA /g. De façon plus étonnante, du BPA a également été retrouvé dans certains tickets de caisse dont la mention spécifiait « Sans BPA » à des concentrations similaires à celles retrouvées dans les tickets ne comportant pas cette mention (moyenne géométrique = 0,217 mg/g) (Liao, Kannan 2011).

Le risque lié à l'exposition cutanée au BPA a conduit à des restrictions de son utilisation dans la fabrication des papiers thermiques en 2020 (Champmartin et al. 2020; Santé publique France 2019) et à son remplacement, principalement par le BPS (Liao, Liu, Kannan 2012). Le BPS est en effet retrouvé à des concentrations équivalentes à celle du BPA dans 87% des papiers thermiques testés issus de 21 pays (moyenne géométrique = 0.181 mg/g) (Liao, Kannan 2011 ; Chen et al. 2016 ; Liao et al. 2012).

Par ailleurs, environ 30% des papiers thermiques entrent dans la production de papier recyclé (dont le papier toilette, les cartons de pizza, les journaux), et peuvent contenir des bisphénols (Chen et al. 2016; US EPA 2015). Environ 700 tonnes de BPA provenant des papiers thermiques entrent chaque année dans l'industrie des papiers recyclés en Europe (Björnsdotter, de Boer, Ballesteros-Gómez 2017). Le BPS a également été quantifié dans ces papiers recyclés à de faibles concentrations, environ 15 fois inférieures à celles du BPA (Liao, Kannan 2011).

Différents bisphénols (BPA, BPAF, BPAP, BPB, BPF, BPP, BPS et BPZ) ont également été détectés dans plusieurs produits de consommation dont des produits d'hygiène (cosmétiques, gel douche, dentifrice etc.) à des fréquences allant de 2,6 % à 13,4 % aux Etats-Unis et en Chine (Chen et al. 2016).

Différentes études *in vitro* et *in vivo* ont montré que le BPA pouvait être absorbé par contact cutané avec les papiers thermiques. L'exposition moyenne quotidienne au BPA par contact cutané avec les papiers thermiques a été estimée à 12,3 ng/jour (Björnsdotter, de Boer, Ballesteros-Gómez 2017). Les données sur l'absorption percutanée du BPS sont en faveur d'une absorption très limitée et systématiquement

inférieure à celle du BPA (*in vitro* : moins de 1% contre jusqu'à 41% pour le BPA) (Champmartin et al. 2020; Khmiri et al. 2020; Liu, Martin 2019). Cependant, entre 20% et 47% de la dose appliquée en BPS est retrouvée dans la peau au bout de 40h de contact, ce qui pose alors la question de l'exposition prolongée (Champmartin et al. 2020). L'apport journalier de BPA et de ses substituts par la manipulation de papier thermique a été estimée à 25 ng/kg/j pour la population générale (Beausoleil 2021). Cependant, pour certaines populations telles que les employés de caisse, l'exposition aux bisphénols par contact cutané avec les papiers thermiques est particulièrement préoccupante et varie de 1,3 µg/jour à 218,3 µg/jour, soit 19 à 3120 ng/kg/j (Björnsdotter, de Boer, Ballesteros-Gómez 2017).

II.1.3 Evaluation de l'exposition par inhalation

Les bisphénols sont utilisés dans la fabrication de nombreux produits présents dans le logement tels que les équipements électroniques et les peintures. Le bisphénol volatilisé à partir de ces produits constitue alors une source de contamination par inhalation d'air ou de poussières domestiques contaminés.

Le BPA est peu retrouvé dans l'air intérieur car il possède une faible pression de vapeur saturante (Santé publique France [2019]). En revanche, les poussières domestiques se révèlent être fréquemment contaminées. Dans une étude réalisée aux Etats-Unis sur les poussières domestiques, 95% des échantillons récoltés contenaient du BPA à des concentrations variant de 0,5 mg/kg à 10,2 mg/kg (Santé publique France [2019]), en fonction du type d'environnement (laboratoire, bureau, logement particulier, etc.). En France, des teneurs du même ordre de grandeur ont été mesurées dans les poussières de 30 logements (Santé publique France [2019]).

Six autres bisphénols ont été mis en évidence dans les poussières domestiques issues de nombreux pays (Björnsdotter, de Boer, Ballesteros-Gómez 2017). Il s'agit du BPS, BPF, BPAF, BPB, BPP et du BPAP. Le BPA, BPS et le BPF comptent à eux seuls pour 98% de la concentration totale en bisphénol des poussières (Björnsdotter, de Boer, Ballesteros-Gómez 2017). Toutefois, l'exposition aux bisphénols par les poussières domestiques est davantage liée à leur ingestion qu'à leur inhalation (Santé publique France [2019] ; Ma et al. 2014).

La présence de bisphénol dans l'air extérieur a également été mise en évidence et serait essentiellement liée aux émissions industrielles lors de la production de

plastiques et résines contenant du bisphénol, ou lorsque les déchets ménagers, notamment les équipements électroniques, sont brûlés de manière non contrôlée par les particuliers (Santé publique France [2019]).

Les bisphénols sont donc présents dans différents secteurs, que ce soit dans l'environnement, dans les produits de consommation ou dans les denrées alimentaires. L'Homme est alors exposé aux bisphénols par de multiples voies, la voie alimentaire étant considérée comme prépondérante. Même si le BPA a longtemps représenté le bisphénol le plus retrouvé dans les produits de consommation, la fréquence de détection des analogues, notamment le BPS et le BPF, est en augmentation.

II.2. Evaluation de l'exposition interne aux bisphénols

II.2.1 Concentrations de bisphénols dans les urines

Le BPA est métabolisé et majoritairement éliminé via les urines, essentiellement sous sa forme conjuguée, le Bisphénol A Glucuronide (BPAG), dans les heures qui suivent son absorption (Ye et al. 2015). La quantité urinaire de BPA total, c'est à dire la somme de la forme libre et des formes conjuguées, constitue donc un bon reflet d'une exposition récente, toute voie confondue. Cependant, l'élimination rapide du BPA (pic de concentration urinaire 2,75 heures après ingestion d'un repas considéré comme source d'exposition) entraîne de fortes variations inter et intra-individuelles sur les concentrations urinaires observées (ANSES 2013b). Ainsi, un unique prélèvement urinaire ne permet pas d'estimer l'exposition quotidienne d'un individu, et plusieurs échantillons collectés sur 24h ne sont pas représentatifs du niveau moyen d'exposition sur une période plus longue (semaine ou mois). L'estimation dans différentes études de la dose journalière absorbée à partir des concentrations urinaires, en considérant que la totalité du BPA absorbé est éliminée dans les urines, rapporte des valeurs moyennes d'exposition comprises entre 10 et 100 ng/kg/j (ANSES 2013b). Si cette approche indirecte apparaît peu représentative de l'évaluation de l'exposition au BPA à l'échelle individuelle, elle permet cependant de se rendre compte du niveau moyen d'exposition à l'échelle d'une population (ANSES 2013b; Ye et al. 2015).

En 2012, la Commission Allemande de Biosurveillance a traduit la DJT de BPA en une valeur seuil appliquée au BPA urinaire. Celle-ci représente la concentration urinaire en BPA en dessous de laquelle il n'y a pas d'effet néfaste sur la santé. Cette valeur, dénommée HBM-1 (Human Biomonitoring Value), a pour but de faciliter la surveillance

de la population par le dosage de la concentration en BPA dans les urines. Elle est aujourd'hui fixée à 100 µg de BPA par litre d'urine pour les enfants et à 200 µg pour les adultes (Santé publique France [2019]). L'étude ESTEBAN (Etude de Santé sur l'Environnement, la Biosurveillance, l'Activité Physique et la Nutrition) a évalué l'exposition de la population française aux bisphénols A, S et F et a montré que les concentrations urinaires de ces bisphénols étaient inférieures à la valeur seuil HBM du BPA, autant chez l'adulte que chez l'enfant (Santé publique France [2019]).

Chez 900 adultes testés en France, la concentration moyenne en BPA urinaire était égale à 1,97 µg/L avec une fréquence de détection de 100%. La valeur maximale observée était de 105,45 µg/L (Fillol et al. 2021; Santé publique France 2019). Toujours en France, le BPA était détecté dans 90,4% des échantillons urinaires de femmes enceintes, à une concentration moyenne de 0,69 µg/L (Santé publique France 2017). Des expositions similaires ont été observées dans différents pays (Tableau 2).

Tableau 2 : Concentrations urinaires en BPA total de cohortes issues de différentes études chez des populations adultes. N = taille de l'échantillon, F = fréquence de détection (%), C = concentration médiane ou moyenne géométrique ($\mu\text{g/L}$), LOD/LOQ = limite de détection/limite de quantification ($\mu\text{g/L}$)

Pays	Cohorte (Référence)	Années	N	F (%)	C ($\mu\text{g/L}$)	LOD/LOQ ($\mu\text{g/L}$)
France	Esteban (Fillol et al. 2021)	2014-2016	900	100	1,97	LOD = 0,01 LOQ = 0,09
France	Cohorte Elfe** Volet périnatal (Santé publique France 2017)	2011	1764	90,2%	0,69	LOD = 0,1 LOQ = 0,3
Europe*	Democophes (Santé publique France 2019)	2011-2012	639		1,78	
Israël	(Lehmler et al. 2018)	2011	249	100	2,39	LOD = 0,1 LOQ = 0,3
États-Unis	Nhanes (Lehmler et al. 2018)	2013-2014	1808	95,7	1,24	LOD = 0,2
Canada	ECMS Cycle 4 (Santé publique France 2019)	2014-2015	362	92,3	1,1	LOD = 0,23
			311	92,3	0,86	
			360	89,7	1,1	
Arabie Saoudite	ND (Santé publique France 2019)	2014	130		4,92	
Etats-Unis	(Ye et al. 2015)	2000-2014	616	74-99	0,15-2	LOD = 0,1
Norvège	(Husøy et al. 2019)	2016-2017	144	96	1,36	LOD = 0,04
Chine	Couple mère-foetus (Zhang et al. 2020)	2007	15	100%	0,9	LOQ = 0,02

*Pays ayant réalisé le dosage du BPA : Belgique, Danemark, Luxembourg, Suède, Slovénie, Espagne

** Femmes enceintes

Le BPS et le BPF, comme le BPA, sont éliminés de façon majoritaire par voie urinaire sous leur forme conjuguée (Grandin 2018; Santé publique France 2019). Dans la population française, entre 2014-2016, ces deux bisphénols ont été détectés dans 100% des échantillons urinaires à des concentrations 5 fois inférieures à celles du BPA (moyenne géométrique égale à 0,38 µg/L pour le BPS et à 0,23 µg/L pour le BPF) (Santé publique France [2019]). Une exposition humaine similaire au BPA et au BPS a cependant été observée aux Etats-Unis et en Arabie-Saoudite (Chen et al. 2016). Les tableaux 3 et 4 résument la fréquence de détection et les concentrations urinaires en BPS et BPF total dans différentes études de biosurveillance.

Tableau 3 : Concentrations urinaires en BPS total de cohortes issues de différentes études chez des populations adultes. N = taille de l'échantillon, F = fréquence de détection (%), C = concentration médiane ou moyenne géométrique (µg/L), LOD/LOQ = limite de détection/limite de quantification (µg/L)

Pays (étude)	Cohorte (Référence)	Années	N	F (%)	C (µg/L)	LOD/LOQ (µg/L)
France (Esteban)	Esteban (Santé publique France 2019)	2014-2016	900	100	0,384	LOD = 0,05 LOQ = 0,01
8 pays*	(Santé publique France 2019)	2012	312	81	0,168	LOQ = 0,02
Etats-Unis (Nhanes)	Nhanes (Lehmler et al. 2018)	2013-2014	1808	89,4	0,37	LOD = 0,1
Etats-Unis	(Ye et al. 2015)	2000-2014	616	19-74	0,25	LOD = 0,1
Chine	Couple mère-foetus (Zhang et al. 2020)	2007	15	100%	0,05	LOQ = 0,02
Norvège	(Husøy et al. 2019)	2016-2017	144	29	0,16	LOD = 0,1

*Japon, Etats-Unis, Chine, Koweït, Vietnam

Tableau 4 : Concentrations urinaires en BPF total de cohortes issues de différentes études chez des populations adultes. N = taille de l'échantillon, F = fréquence de détection (%), C = concentration médiane ou moyenne géométrique ($\mu\text{g/L}$), LOD/LOQ = limite de détection/limite de quantification ($\mu\text{g/L}$)

Pays (étude)	Cohorte (Référence)	Années	N	F (%)	C ($\mu\text{g/L}$)	LOD/LOQ ($\mu\text{g/L}$)
France (Esteban)	Esteban (Santé publique France 2019)	2014-2016	900	100	0,23	LOD = 0,01 LOQ = 0,02
Israël	(Santé publique France 2019)	2015-2016	50	51	0,4	LOD = 0,2
Etats-Unis (Nhanes)	Nhanes (Lehmler et al. 2018)	2013-2014	1808	66,5	0,32	LOD = 0,2
Etats-Unis	(Ye et al. 2015)	2000-2014	616	42-88	0,54	LOD = 0,1
Norvège	(Husøy et al. 2019)	2016-2017	144	4	0,08	LOD = 0,07

Pour les autres bisphénols, les voies d'excrétion ont été peu étudiées. De ce fait, il n'est pas possible de savoir si les quantités urinaires constituent un bon reflet de l'exposition interne de la population. Par exemple, chez le rat, le BPAF est principalement éliminé dans les fèces, alors que l'urine représente une voie d'élimination secondaire (Waidyanatha et al. 2015). Ce dernier est par ailleurs rarement détecté dans les échantillons urinaires (Ye et al. 2015).

Facteurs de variations de l'exposition humaine

Différents facteurs dont l'âge, le sexe, le niveau d'étude, le type d'alimentation etc. peuvent être associés à une variation de l'imprégnation en bisphénols.

- Effet de l'âge

Les données citées dans la littérature montrent une exposition aux bisphénols plus élevée des enfants par rapport aux adultes (Santé publique France 2019). Cette exposition accrue pourrait être liée à la spécificité de leur alimentation, leur contact

avec le sol et leur tendance à mettre des objets en plastique dans la bouche (ANSES 2013b). Les doses d'exposition rapportées au poids corporel pourraient également expliquer cet effet de l'âge.

- Effet du type d'alimentation

Une étude a montré une augmentation d'un facteur 12 de la concentration urinaire en BPA chez cinq volontaires ayant mangé de la soupe en boîte de conserve pendant 5 jours, comparativement à des aliments frais (ANSES 2013b). Cette étude conforte la contribution majeure de l'alimentation dans l'exposition au BPA.

De la même façon, une augmentation des concentrations urinaires en BPS et BPF chez les enfants et les adultes a pu être mise en relation avec l'achat d'aliments préemballés (Santé publique France [2019]).

Un effet substitution déjà visible ?

La réalité de la substitution du BPA a été démontrée dans des études menées sur plusieurs années. Ainsi, entre 2000 et 2014, sur une cohorte aux Etats-Unis, une augmentation des fréquences de détection et des concentrations urinaires en BPF et BPS a été mise en évidence, parallèlement à une diminution des concentrations de BPA (Figure 5) (Ye et al. 2015).

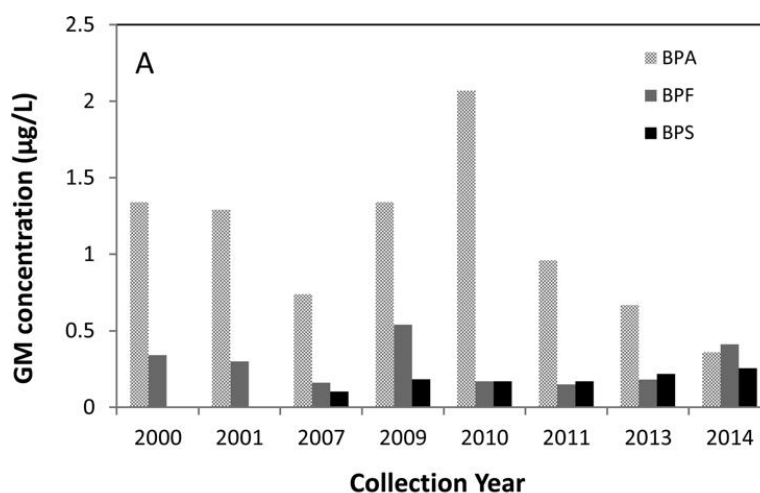


Figure 5 : Moyenne géométrique (GM) des concentrations urinaires totales (µg/L) en BPA, BPF et BPS issues de 616 prélèvements urinaires dans la population générale adulte à Atlanta (Etats-Unis) entre 2000 et 2014. Source : Ye et al. 2015

II.2.2. Concentrations sanguines de bisphénols

Les concentrations sanguines en bisphénols sont importantes à considérer car elles déterminent les effets. Globalement, les concentrations sanguines en bisphénols (sérum, plasma) sont peu utilisées comme marqueur d'exposition comparativement aux concentrations urinaires, en raison des très faibles concentrations plasmatiques nécessitant de développer des méthodes de dosage très sensibles et du risque de contamination des échantillons au cours des étapes de collecte et de dosage (Beausoleil 2021).

Les concentrations sanguines en BPA rapportées dans la littérature sont indiquées dans la Figure 6. Aucune relation entre le BPA urinaire et le BPA sérique n'a pu être mise en évidence. Une étude a cependant montré que le pic sérique était observé environ 1h30 après ingestion d'un repas considéré comme étant la source d'exposition et précédait ainsi le pic urinaire d'environ une heure (ANSES 2013b).

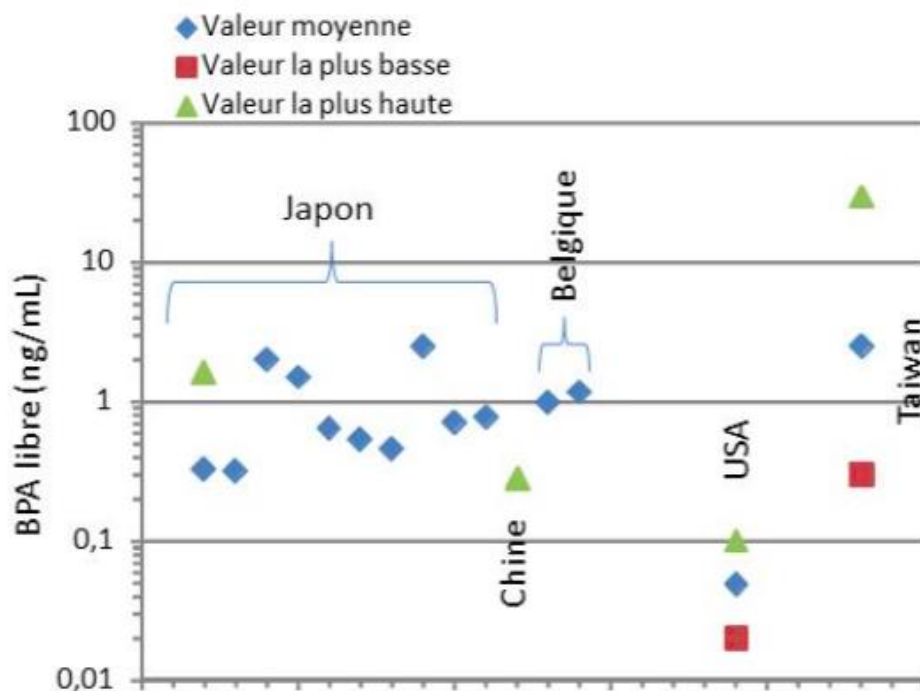


Figure 6 : Valeurs (moyenne et étendue) des concentrations sériques en BPA libre rapportées par différentes études entre 1999 et 2012 et publiées par le rapport d'expertise collective de l'Anses en 2013.

Pour les autres bisphénols, les taux de détection sont plus faibles. Ainsi, en Chine, le BPA, le BPS et le BPAF non conjugués ont tous les trois été détectés dans le plasma d'adultes à des concentrations moyennes de 0,40, 0,15 et 0,073 $\mu\text{g/L}$, respectivement. Dans cette étude, le BPA représente 63% des bisphénols totaux, contre 18% pour le BPS (Ye et al. 2015). Toujours en Chine, chez la femme enceinte, les BPA, BPAF et BPE ont été détectés dans 100 % des échantillons plasmatiques, contre 97% pour le BPS et 30% pour le BPF et le BPAP (Pan et al. 2020).

L'ensemble de ces données montrent la réalité de la substitution du BPA, en particulier par le BPS et le BPF, et par d'autres bisphénols émergents dont le potentiel perturbateur endocrinien n'a pas encore été évalué et qui peuvent donc présenter un risque pour la population. Par ailleurs, la détection des bisphénols émergents dans les échantillons urinaires et sanguins des femmes enceintes pose la question de l'exposition fœtale à ces potentiels perturbateurs endocriniens.

II.3. Exposition fœtale aux bisphénols et passage placentaire

II.3.1. Exposition fœtale aux bisphénols

L'exposition prénatale aux bisphénols est particulièrement critique en raison de la sensibilité accrue du fœtus à la perturbation endocrinienne.

L'exposition fœtale est évaluée par la mesure des concentrations en bisphénol dans le sang du cordon ombilical, et dans une moindre mesure dans le liquide amniotique. Plusieurs études ont montré que le BPA pouvait passer la barrière placentaire et s'accumuler dans les tissus fœtaux à des concentrations du même ordre de grandeur que celles mesurées chez la mère (Almeida et al. 2018; Santé publique France 2019; Zhang et al. 2020). Les études ayant dosé le BPA dans le sang de cordons ombilicaux indiquent en effet des concentrations de l'ordre du $\mu\text{g/L}$ (ANSES 2013b). Dans une zone de démantèlement de déchets électroniques en Chine, le BPA est retrouvé dans 88% des échantillons sanguins issus de cordons ombilicaux, à une concentration moyenne de 1,2 $\mu\text{g/L}$ (Zhang et al. 2020).

Le BPS est également détecté dans le sérum de cordons ombilicaux à des concentrations entre 10 et 100 fois plus faibles que les concentrations en BPA rapportées (Liu et al. 2017; Zhang et al. 2020). Il est, derrière le BPA, le deuxième bisphénol le plus fréquemment détecté (Zhang et al. 2020).

L'étude du sang des cordons ombilicaux de 30 nouveau-nés a mis en évidence la

présence de bisphénol dans 77% d'entre eux (Ihde et al. 2018). Le BPAF et le BPF étaient les deux bisphénols les plus fréquemment retrouvés, avec 57% et 50% de fréquence de détection respectivement. Par ailleurs, malgré la présence de BPS et de BPB dans la majorité des échantillons urinaires maternels, le BPS n'a été détecté dans aucun échantillon de sang ombilical et dans un seul échantillon pour le BPB. Dans cette étude, seulement deux échantillons sanguins de cordon ombilical contenaient du BPA (Ihde et al. 2018).

Ces données suggèrent l'existence d'un transfert placentaire des analogues du BPA (Ihde et al. 2018; Zhang et al. 2020).

II.3.2. Les échanges placentaires

Le placenta est une barrière materno-fœtale qui permet de contrôler les échanges entre la circulation maternelle et la circulation fœtale, notamment d'oxygène et de nutriments. Il permet également de protéger le fœtus de l'exposition aux xénobiotiques. Le placenta humain est dit hémochorial car les villosités fœtales sont en contact direct avec le sang maternel (Figure 7). La structure du placenta humain évolue au cours de la grossesse, ce qui conduit à une augmentation des échanges du début à la fin de la gestation (ramifications villositaires en augmentation, cytotrophoblaste qui s'affine, augmentation du débit sanguin utérin etc.). Les échanges entre la mère et le fœtus, et notamment le transfert placentaire d'une molécule donnée, seront donc différents en fonction du stade de gestation étudié (Embryologie humaine 2021).

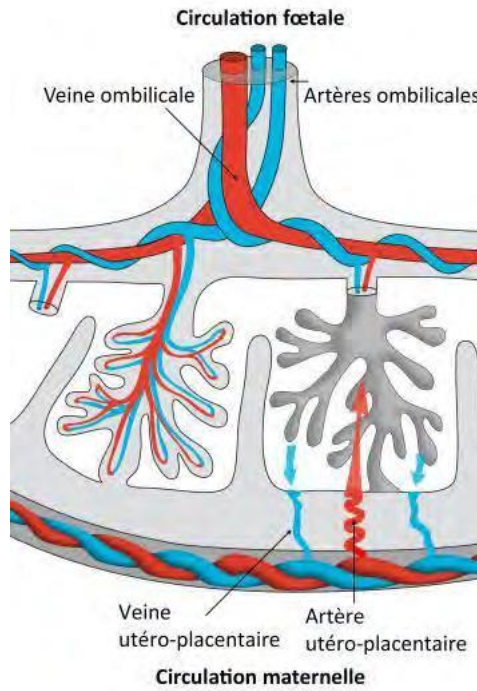


Figure 7 : Circulation fœtale et maternelle au niveau du placenta. Source : la circulation fœtale. Unité fœto-placentaire Dr André Gwenaëlle

Il existe trois principaux types de transfert placentaire qui sont la diffusion passive, le transport facilité et le transport actif (Grandin 2018; Embryologie humaine 2021).

La diffusion passive est le mécanisme de transfert placentaire de la plupart des molécules. Il repose sur le gradient de concentration et ne nécessite pas d'énergie. Ce mode de transport est possible uniquement pour les molécules de faible poids moléculaire (<500 Da), non liées aux protéines plasmatiques, lipophiles et non ionisées. Les bisphénols, molécules neutres de faible poids moléculaire, sont donc tous en théorie candidats au transfert placentaire par diffusion passive, du moins pour ce qui est de leur fraction non liée aux protéines.

Le transport facilité fait intervenir une molécule porteuse sans faire intervenir d'énergie. Il intervient en complément de la diffusion passive afin d'augmenter les échanges entre la mère et le fœtus.

Contrairement au mécanisme de diffusion passive, le transport actif est saturable et est soumis à un phénomène de compétition entre les substrats. En effet, il fait intervenir des protéines de transport et nécessite de l'énergie sous forme d'ATP (hydrolyse) ou issue d'un gradient électrochimique. Il n'est donc pas dépendant d'un

gradient de concentration. Les molécules ionisées, plus hydrosolubles ou de poids moléculaire élevé nécessitent ce type de transport pour franchir la barrière placentaire.

II.3.3. Le transfert placentaire des bisphénols

Le passage placentaire du BPA et du BPS a été étudié sur un modèle *ex vivo* de placenta humain perfusé, indiquant des taux de transfert respectivement de 36 et 3.18% (Corbel et al. 2014; Grandin 2018). Cela signifie que les analogues du BPA, malgré leurs similitudes structurales, n'ont pas le même potentiel de passage placentaire. Le passage du BPA dans le sens materno-foetal se fait essentiellement de façon passive. Le coefficient de partage octanol-eau plus faible du BPS par rapport à celui du BPA (respectivement 2,15 et 3,32) pourrait expliquer en partie son transfert placentaire plus limité. L'implication de transporteurs d'efflux pourrait également expliquer ce faible passage placentaire du BPS (Grandin 2018). Une étude menée en Chine a estimé le passage placentaire des BPA, BPS et BPAF par calcul du ratio entre la concentration en bisphénol dans le cordon ombilical et celle du sérum maternel (Zhang et al. 2020). Les résultats ont mis en évidence un transfert plus élevé pour le BPAF par rapport au BPA et au BPS. Dans cette étude, le taux de transfert augmentait avec le poids moléculaire ou le logP des bisphénols.

De plus, seule la fraction libre et non conjuguée des bisphénols est active, c'est à dire capable d'exercer son potentiel endocrinien, et peut passer à travers les membranes cellulaires. Or, une fraction du bisphénol plasmatique est liée aux protéines plasmatiques avec plus ou moins d'affinité. La liaison aux protéines plasmatiques maternelles pourrait alors limiter le transfert placentaire.

Depuis quelques années déjà, le bisphénol A est remplacé dans ses différents domaines d'utilisation par certains de ses analogues, dont le BPS et le BPF. Les études sur ces nouveaux bisphénols restent limitées mais les premières données montrent leur utilisation croissante dans les produits de consommations et notamment dans les emballages alimentaires. Ces analogues de bisphénols sont aussi retrouvés dans les échantillons urinaires et sanguins de différentes cohortes humaines. En particulier, la détection de ces bisphénols émergents dans le sang du cordon ombilical démontre la réalité de l'exposition foetale. Le potentiel perturbateur endocrinien et le risque pour la santé humaine lié à l'exposition aux analogues structuraux du BPA, en particulier pendant la période à risque du développement foetal, n'ont cependant pas

été évalués. Le passage placentaire constitue un déterminant majeur de l'exposition fœtale. Ainsi, dans le cadre de l'équipe EXPER de TOXALIM, le passage placentaire materno-fœtal du BPA et de 14 de ses analogues structuraux en mélange a été étudié et fait l'objet de la deuxième partie de notre thèse.

Etude expérimentale

L'objectif de cette étude est d'évaluer le passage placentaire de 15 bisphénols dans le sens materno-fœtal sur un modèle de placenta humain perfusé en circuit ouvert. Elle s'inscrit dans un projet de recherche concernant la substitution du bisphénol A par des analogues structuraux en termes de risque d'exposition humaine, notamment pendant la période critique de la gestation. En effet, sur le modèle ex vivo de placenta humain perfusé, le taux de transfert placentaire du BPA est de l'ordre de 36%, impliquant un mécanisme de diffusion passive, contre 3,18% pour le BPS (Corbel et al. 2014; Grandin 2018). Ces données suggèrent un potentiel d'exposition fœtale au BPS 10 fois plus faible que celui du BPA, pour une même exposition interne maternelle.

En raison de la complexité du modèle de placenta ex vivo et du temps que nécessite chaque perfusion placentaire, notre stratégie expérimentale a consisté à perfuser les 15 bisphénols en mélange. Afin de s'assurer que le mélange des bisphénols n'interférait pas avec le mécanisme de transfert placentaire, les passages placentaires materno-fœtaux du BPA et du BPS ont été comparés avec les résultats précédemment obtenus au laboratoire sur le même modèle de placenta, pour le BPA et le BPS perfusés isolément.

Les essais ont été menés par l'équipe EXPER (Exposition aux perturbateurs endocriniens, reproduction et métabolisme, UMR INRAE, ENVT, INP-EIP, UT3, TOXALIM) à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse entre Avril et Août 2019 (Gély et al. 2021).

I. Matériels et méthodes

I.1 Placentas

L'étude a été menée sur cinq placentas issus de femmes séronégatives vis-à-vis du VIH et menant à terme des grossesses sans complication. Les placentas ont été collectés à la maternité de Paule de Viguié à Toulouse puis transportés dans un délai de moins de 30 minutes après la délivrance à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Parmi les cinq placentas utilisés, quatre sont issus d'une procédure de césarienne, et un d'un accouchement par voie basse. Chacune des patientes a signé

un formulaire de consentement éclairé afin de participer à cette étude (Numéro d'agrément : DC-2016-2694).

I.2 Produits chimiques

Le Bisphénol S (BPS) (pureté $\geq 98\%$), le Bisphénol A (BPA) (pureté $\geq 99\%$), le Bisphénol E (BPE) (pureté $\geq 98\%$), le 2,2-Bis(4-hydroxy-3-méthylphényl)propane (3-3BPA) (pureté $\geq 97\%$), le Bisphénol B (BPB) (pureté $\geq 98\%$), le Bis(4-hydroxyphényl)-2,2-dichloroéthylène (BPC) (pureté $\geq 98\%$), le Bisphénol BP (BPBP) (pureté $\geq 98\%$), le Bisphénol F (BPF) (pureté $\geq 98\%$), le Bisphénol FL (BPFL) (pureté $\geq 97\%$), le Bisphénol Z (BPZ) (pureté $\geq 98\%$), le 4,4'-Dihydroxybiphényle (BP4-4) (pureté $\geq 97\%$), le Bisphénol AP (BPAP) (pureté $\geq 99\%$), le Bisphénol AF (BPAF) (pureté $\geq 97\%$), le Bisphénol P (BPP) (pureté $\geq 98\%$), le Bisphénol M (BPM) (pureté $\geq 99\%$) et l'antipyrine (pureté $\geq 98\%$) ont été achetés auprès de la société Sigma-Aldrich (Saint-Louis, Missouri, Etats-Unis).

L'albumine sérique bovine (BSA, Fraction V, pureté 100%, Aviva Systems Biology, San Diego, Etats-Unis) et le milieu de Earle ont été achetés auprès de United States Biological (Salem, MA 01970, Etats-Unis).

Six standards isotopiques, à savoir le BPAF-d4 (pureté $\geq 98\%$), BPAP-d5 (pureté $\geq 97,5\%$), BPP-d16 (pureté $\geq 98\%$), BPS-d8 (pureté $\geq 97\%$) et BPA13C12 (pureté $\geq 98\%$) ont été achetés chez Toronto Research Chemicals (Toronto, Canada). Le méthanol et l'acétonitrile ont été achetés chez Fisher Scientific (Illkirch, France) et l'acétone chez Sigma-Aldrich (Saint-Louis, Missouri, Etats-Unis), avec une qualité compatible avec leur utilisation pour la chromatographie liquide (LC) et la spectrométrie de masse (MS).

Le matériel de perfusion placentaire, ainsi que celui utilisé pour la préparation des solutions, le prélèvement, le traitement et l'analyse était en verre ou en plastique sans BPA ni BPS.

L'absence de fixation des bisphénols au matériel de perfusion a été vérifiée en comparant les concentrations de bisphénols dans le réservoir maternel et dans le perfusât maternel circulant dans la tubulure en l'absence du cotylédon (rapports moyens entre 93 et 103% pour les bisphénols) (Gély et al. 2021).

I.3 Préparation des milieux de perfusion foetal et maternel

Les milieux de perfusion ont été préparés à partir d'un milieu de Earle dont la composition était la suivante : Chlorure de calcium (0,265 g/L), D-Glucose (0,001 g/L), Sulfate de magnésium (0,200g/L), Rouge de Phénol, Sodium (0,010 g/L), Chlorure de potassium (0,400 g/L), Chlorure de Sodium (6,800 g/L), Phosphate de Sodium Monobasique (0,140 g/L).

Des études précédentes ont montré que le BPA, le BPS, le BPF, le BPB, le BPE, le BPM et le BPAF se liaient à certaines protéines plasmatiques dont l'albumine (Grumetto, Barbato, Russo 2019). Le milieu de Earle a donc été supplémenté avec de l'albumine sérique d'origine bovine (BSA) à une dose de 25 g/L à 37°C en raison de son homologie avec l'albumine sérique humaine. Cette supplémentation permet de se rapprocher au mieux des conditions physiologiques des concentrations de protéines plasmatiques en fin de gestation (Corbel et al. 2014).

Les solutions mères des bisphénols, à l'exception du BPBP, ont été préparées dans 1,5 mL d'éthanol à une concentration de 15000 μM , aliquotées et conservées à -20°C. Le BPBP a été dissout dans l'éthanol à une concentration de 3000 μM , en raison de sa faible solubilité. La solution mère du mélange des 15 bisphénols a été obtenue par le mélange de 1 mL de chaque solution de bisphénol dans une fiole de 20 mL, puis ajustement du volume par ajout d'éthanol pur. La concentration finale des bisphénols dans la solution mère était de 7500 μM , sauf pour le BPBP dont la concentration était de 1500 μM . La concentration nominale des bisphénols dans le réservoir maternel (volume de 1,5 mL) était de 5 μM , excepté pour le BPBP pour laquelle elle était de 1 μM . La concentration de 5 μM a été choisie afin de pouvoir détecter les bisphénols dans l'effluent foetal à des concentrations suffisamment basses pour pouvoir évaluer correctement le transfert materno-foetal en tenant compte de la sensibilité de notre méthode de dosage sachant que le taux de transfert placentaire materno-foetal du bisphénol S a été évalué à 3,18% (Grandin 2018). C'est en effet le plus hydrophile des 15 bisphénols étudiés, ce qui suggère que son passage placentaire pourrait être plus faible que celui de ses analogues.

Le mélange de bisphénols a été ajouté au réservoir maternel afin d'étudier le transfert materno-foetal. Les concentrations nominales finales des bisphénols dans le milieu de perfusion maternel sont indiquées dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Concentrations nominales finales (en µg/mL) des 15 bisphénols dans le milieu de perfusion maternel

Bisphénols	BP A	BP S	BPF	BPA F	BP B	BP E	BP C	BP4 -4'	3,3'B PA	BPA P	BPB P	BP P	BP M	BPZ	BPF L
Concentration dans le milieu de perfusion (µg/mL)	1,14 1	1,25 1	1,00 1	1,68 1	1,21 2	1,07 1	1,40 6	0,93 1	1,282	1,45 2	1,76 2	1,73 2	1,73 2	1,34 2	1,75 2

L'antipyrine a été ajoutée dans le réservoir maternel à une concentration de 20 mg/mL en même temps que le mélange de bisphénols. La solution mère d'antipyrine (C₁₁H₁₂N₂O) a été aliquotée et conservée à -20°C, à une concentration de 60 mg/ml dans l'eau ultra pure (soit 60000 µg/ml). L'antipyrine est un marqueur de diffusion passive, qui permet de valider l'intégrité du placenta (Corbel et al. 2014).

I.4 Système *ex vivo* de perfusion placentaire en double circuit ouvert

Le transfert placentaire des bisphénols a été étudié sur un modèle *ex vivo* de placenta humain perfusé en double circuit ouvert, méthode de référence pour l'étude du passage placentaire, et qui a déjà été utilisée pour le BPA et le BPS (Corbel et al. 2014; Grandin 2018).

Les milieux de perfusion maternel et fœtal ont été maintenus à 37 °C dans un bain marie à 40 °C et sous agitation. Après un bref examen visuel du cotylédon périphérique permettant de s'assurer de son intégrité, deux canules (Microtube Tygon S54HL, Saint Gobain, Courbevoie, France) ont été insérées dans une artère chorale et la veine chorale correspondante afin de recréer la circulation fœtale. Du côté maternel, le blanchissement progressif du cotylédon a permis de visualiser les contours du cotylédon perfusé (Figure 8).



Figure 8 : Face maternelle du cotylédon perfusé dans la chambre thermostatée. La décoloration du cotylédon permet de s'assurer de l'efficacité de la perfusion

Une pompe péristaltique a permis d'assurer la circulation de la solution de perfusion fœtale (milieu de Earle) à un débit de 6 mL/min. Deux débitmètres placés au niveau de l'artère et de la veine choriales permettaient de vérifier l'équilibre des pressions artérielle et veineuse sur le circuit. Le débit de l'effluent fœtal était mesuré pour vérifier l'absence de fuite. Après avoir recréé cette circulation fœtale, le cotylédon a été découpé au scalpel et placé dans réceptacle à double fond thermostaté à 37°C, face fœtale contre la grille et face maternelle vers le haut. Deux cathéters ont été insérés à une profondeur de 0.5 cm dans l'espace intervilleux du cotylédon, à 1 cm environ l'un de l'autre, du côté maternel. Une deuxième pompe péristaltique a permis d'obtenir un débit de circulation maternelle de 12mL/min, dont la pression a été vérifiée par un débitmètre placé à l'entrée du cotylédon (Figure 9). L'effluent veineux fœtal a été collecté toutes les 5 minutes à partir de l'éprouvette graduée. L'effluent maternel qui s'écoulait au fond du réceptacle a été aspiré et récupéré toutes les 5 minutes, et son volume mesuré.

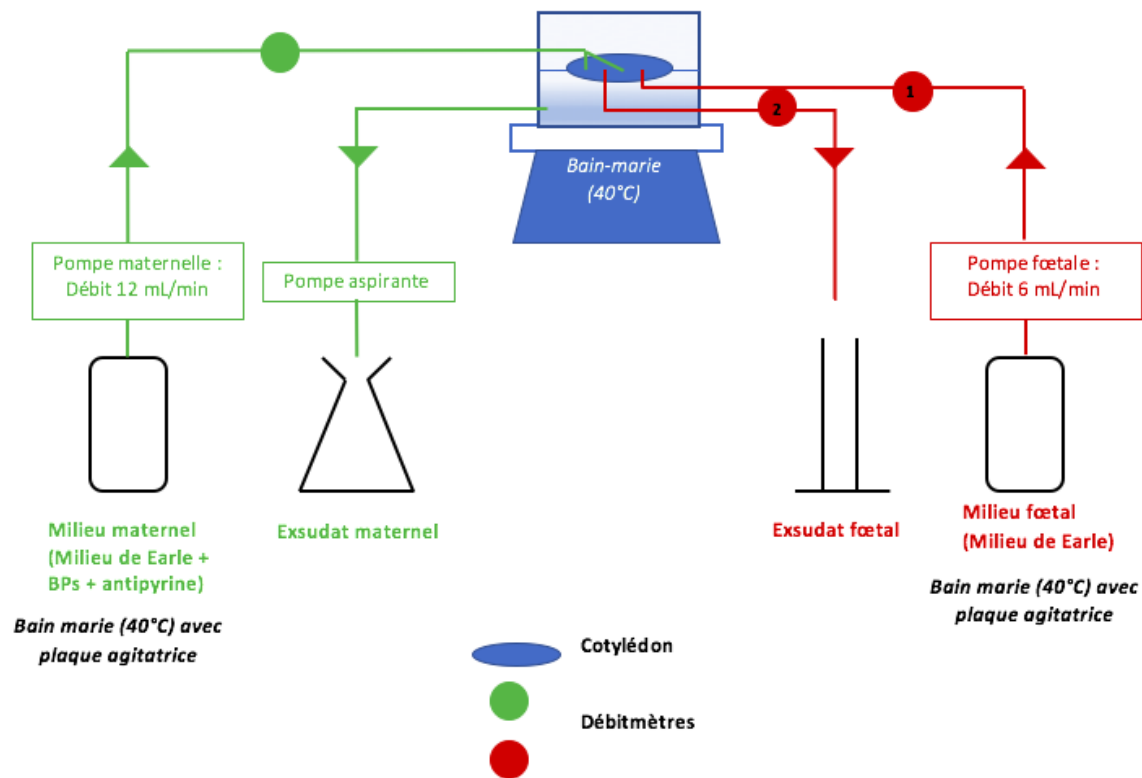


Figure 9 : Schéma du système de perfusion ex-vivo en double circuit ouvert. Les circulations maternelle et fœtale sont recréées expérimentalement grâce à la circulation du milieu de Earle. Une pompe péristaltique a permis d'assurer la circulation de la solution de perfusion fœtale à un débit de 6mL/min. Deux débitmètres placés au niveau de l'artère (1) et de la veine (2) choriales représentées en rouge permettaient de vérifier l'équilibre des pressions artérielle et veineuse sur le circuit. Une deuxième pompe péristaltique a permis d'obtenir un débit de 12mL/min dans la circulation maternelle, contenant le mélange de bisphénols (BPs) et l'antipyrine, et dont la pression a été vérifiée par un débitmètre placé à l'entrée du cotylédon. L'exsudat maternel a été collecté via un système de pompe aspirante.

Après avoir vérifié l'équilibre des débits de perfusion du cotylédon, le mélange de bisphénols ainsi que l'antipyrine ont été ajoutés dans le milieu maternel pour l'étude du transfert materno-fœtal. Ceci correspond alors au temps 0 (T0) de l'expérience. La durée de perfusion a été de 90 minutes.

Au bout des 90 minutes de perfusion, le cotylédon a été perfusé pendant 15 minutes par un tampon phosphate à 4°C, pH 7,4 et la solution de rinçage a été collectée à la fois du côté fœtal et du côté maternel, pour l'évaluation du bilan massique.

1.5 Collecte des échantillons

Des échantillons du milieu maternel et fœtal ont été collectés avant l'ajout du mélange de bisphénols et d'antipyrine dans le but de vérifier l'absence de relargage de

bisphénol dans le système de perfusion. Des échantillons ont été prélevés dans le réservoir maternel après l'ajout simultané du mélange de bisphénols et d'antipyrine (temps 0) et toutes les 30 minutes (soit T0, T30, T60 et T90) au cours de l'expérience afin de mesurer les concentrations en bisphénols et en antipyrine du réservoir maternel au cours de la perfusion. Un prélèvement de 1 mL d'effluent veineux fœtal a été collecté toutes les 5 minutes pendant la durée de perfusion. L'exsudat maternel a été collecté dès le temps 0 et toutes les 30 minutes jusqu'à 90 minutes.

Les échantillons prélevés au cours de la perfusion placentaire ont été immédiatement refroidis dans la glace et centrifugés pendant 10 minutes à 3000 g et à 4°C pour éliminer les cellules placentaires, et le surnageant a été collecté et divisé en trois aliquots, conservés à -20°C jusqu'à la réalisation des dosages.

Aliquot 1 : 100 µL dosage des bisphénols

Aliquot 2 : 100 µL dosage de l'antipyrine

Aliquot 3 : reste de l'échantillon

I.6 Suivi des paramètres de perfusion

Les paramètres de la perfusion ont été vérifiés et notés toutes les 5 minutes pendant la perfusion : débit artériel fœtal, débit veineux fœtal, volume d'effluent veineux fœtal, débit de circulation maternelle, pH des milieux maternel et fœtal, température. Régulièrement au cours de la perfusion, le pH des milieux de perfusion a été ajusté et maintenu à $7.41 \pm 0,022$ pour le milieu maternel et $7.23 \pm 0,025$ pour le milieu fœtal.

I.7 Dosage de l'antipyrine

Les concentrations en antipyrine dans les milieux de perfusion ont été évaluées par UHPLC (Chromatographie Liquide Haute Performance couplée à la détection UV). L'antipyrine a été extrait du milieu de perfusion (100 µL d'échantillon) en ajoutant 200 µL d'acide triacétique à 5%. Après mélange et centrifugation (20000 g, 10 min à 4°C), les échantillons ont été élués sur une colonne C18 à un débit de 0.3 mL/min et à 40°C en utilisant un gradient d'élution H₂O/acétonitrile et une détection UV à 250 nm. La gamme de concentration s'étend de 0.5 à 50 µg/mL. Les données ont été ajustées avec un modèle linéaire pondéré par l'inverse des concentrations. Des échantillons blancs ont été utilisés pour vérifier l'absence de contamination pendant le dosage. L'exactitude de la méthode a varié entre 87% et 103% et les répétabilités intra et inter-

dosage des échantillons contrôles à des niveaux de concentrations de 0.8, 8 et 30 mg/mL étaient inférieure à 11%. La limite de quantification était de 0.5 µg/mL.

I.8 Dosage des 15 bisphénols

Les concentrations des bisphénols ont été déterminées simultanément par une méthode de dosage UHPLC/MS/MS (Acquity-2D UPLC® Xevo® TQ, Waters, Milford, MA, USA) en utilisant les méthodes précédemment développées au laboratoire et décrites par Grandin (2018) et Lacroix et al. (2011) Les bisphénols ont été extraits du milieu de perfusion (100 µL) en ajoutant 200 µL d'acétone contenant les standards internes (100 ng/mL). Les échantillons ont été vortexés pendant 1 min à 10 °C et 1400 rpm et centrifugés à 20000 g et à 4°C pendant 10 min. 200 µL de surnageant ont ensuite été évaporés sous N₂ et repris dans 200 µL d'un mélange méthanol/H₂O: 50/50 (v/v). Les BPs ont été séparés sur une colonne Raptor Biphenyl (100 × 2.1 mm; 2.7 mm, Restek) avec un débit de 0.3 mL/min et à 40 °C, avec un gradient d'élution H₂O/méthanol. Les analytes ont été détectés en mode electrospray négatif et MRM (multiple reaction monitoring). Les transitions MRM sont indiquées dans l'article de (Gély et al. 2021).

Cette méthode a permis de doser simultanément les 15 bisphénols sur une large gamme de concentrations entre 0.05 et 5 mM, et sans dilution préalable, permettant d'évaluer des taux de transfert entre 1 et 40-50%. Cette méthode de dosage a été validée selon les normes définies pour les médicaments par l'agence européenne du médicament (European Medicines Agency 2011). L'absence de contamination durant la perfusion placentaire a été vérifiée par l'utilisation d'échantillons blancs. Un modèle linéaire ou quadratique avec $1/X$ ou $1/X^2$ (X = concentration) comme facteur de pondération a été utilisé en fonction des bisphénols pour avoir le meilleur ajustement des données.

Les limites de quantification (LOQs) ont été définies comme les concentrations les plus faibles de la courbe d'étalonnage qui pouvaient être quantifiées avec un coefficient de variation inférieur à 20% et une exactitude comprise entre 80 et 120%. Les LOQs ont été validées à 1 ng/mL pour le BPAF et le BPAP, 5 ng/mL pour les BP4-4, BPF, BPE, BPA, BPB, BPZ, BPM, BPFL, BPBP, 10 ng/mL pour BPS et 50 ng/mL pour 3-3BPA, BPC et BPP. Les répétabilités intra- et inter-journalières (pendant 3 jours, sur 6

répétitions) étaient inférieures à 22% avec une exactitude allant de 85% à 117% pour tous les bisphénols.

Les courbes de calibration ont été établies à partir des LOQs des bisphénols jusqu'à 2000 ng/mL pour garantir des mesures du taux de transfert placentaire entre 1 et 50% et quantifier les bisphénols dans le milieu maternel sans nécessiter la dilution des échantillons.

II. Analyse des données

II.1 Calcul des paramètres de perfusion materno-fœtale

Les concentrations en antipyrine et en bisphénols à l'équilibre ont permis de calculer différents paramètres : taux de transfert, taux d'extraction et clairance placentaire.

- Le taux de transfert materno-fœtal de l'antipyrine ($TTf_{\text{Antipyrine}}$) est calculé à chaque temps t comme le rapport entre la concentration d'antipyrine dans l'effluent et sa concentration initiale dans le réservoir maternel :

$$\%TTf_{\text{Antipyrine}} = 100 \times \frac{C^{\circ} \text{ antipyrine effluent veineux fœtal}}{C^{\circ} \text{ antipyrine réservoir maternel}}$$

Pour valider l'intégrité du cotylédon et l'absence de fuite au sein du cotylédon perfusé, la moyenne des taux de transfert materno-fœtal de l'antipyrine obtenus au cours du plateau doit être supérieure à 20% (Gavard et al. 2009).

- Le taux de transfert materno-fœtal d'un bisphénol ($TTf_{\text{Bisphénol}}$) est calculé à chaque temps t comme le rapport entre la concentration du bisphénol dans l'effluent fœtal et sa concentration dans le réservoir maternel :

$$\%TTf(\text{Bisphénol}) = 100 \times \frac{C^{\circ} \text{ bisphénol effluent veineux fœtal}}{C^{\circ} \text{ bisphénol réservoir maternel}}$$

- L'indice de clairance placentaire d'un bisphénol ($IC_{\text{Bisphénol}}$) est le rapport entre le taux de transfert du bisphénol sur le taux de transfert de l'antipyrine à un instant t :

$$IC(\text{Bisphénol}) = \frac{\%Tf\text{Bisphénol}}{\%Tf\text{Antipyrine}}$$

- Le taux d'extraction materno-fœtal (%Extraction) représente le pourcentage de substance ayant traversé la barrière placentaire sur la quantité perfusée :

$$\%Extraction = \%Tf \times \frac{\text{débit foetal}}{\text{débit maternel}}$$

- La clairance placentaire (Cl) correspond au volume de substance épuré par unité de temps ayant traversé la barrière placentaire :

$$Cl = \text{débit maternel} \times \frac{c^{\circ} \text{ réservoir maternel} - c^{\circ} \text{ effluent veineux foetal}}{c^{\circ} \text{ réservoir maternel}}$$

II.2 Analyse statistique

Les taux de transfert placentaire de chaque bisphénol ont été comparés avec celui de l'antipyrine par le test de Dunnett pour des comparaisons multiples, avec un niveau de confiance de 0,95. Deux groupes ont été identifiés : un groupe de bisphénols dont les taux de transfert placentaire n'était pas significativement différents de celui de l'antipyrine et un groupe de bisphénols dont les taux de transfert étaient significativement plus faibles que celui de l'antipyrine. Pour chaque groupe de bisphénols, les indices de clairances placentaires ont été comparés par une analyse de variance, suivie par une analyse post-hoc de Tukey, avec un niveau de confiance de 0,95. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R® (R development core team, 2009).

III. Résultats

Le taux de transfert moyen de l'antipyrine sur les 5 placentas perfusés a été de $31,7 \pm 12,6\%$. Les 5 placentas ayant obtenu un taux de transfert moyen supérieur au seuil de 20%, tous ont été validés. L'intégrité fonctionnelle du système de perfusion a été vérifiée en temps réel par la stabilité des débits maternel et fœtal. Le débit maternel moyen obtenu sur les 5 placentas a été de $12,5 \pm 1,9$ mL/min et le débit fœtal moyen de $5,3 \pm 0,7$ mL/min. Les concentrations en bisphénol et en antipyrine dans les réservoirs maternel et fœtal avant ajout du mélange étaient toutes en dessous des

seuils de détection de la méthode de dosage. Les taux de transfert du BPA ($25,70 \pm 9,85\%$) et du BPS ($2,45 \pm 0,77\%$) sont similaires à ceux obtenus de façon individuelle dans de précédentes études *ex vivo* dans des conditions expérimentales similaires, avec le bisphénol perfusé isolément (respectivement 36% et 3,18%) (Corbel et al. 2014; Grandin 2018), ce qui nous permet de valider notre approche méthodologique en cocktail.

Le Tableau 6 décrit l'ensemble des paramètres (moyenne \pm écart-type) obtenus sur les 5 placentas pour les 15 bisphénols perfusés en mélange. Les 15 bisphénols présentent des taux de transfert materno-fœtal allant de $2,45 \pm 0,77\%$ pour le BPS à $26,45 \pm 9,11\%$ pour le BPB. En comparaison, le taux de transfert de l'antipyrine dont le passage placentaire se fait par diffusion passive est de $31,68 \pm 12,6\%$. La comparaison statistique des taux de transferts placentaire obtenus pour chacun des bisphénols avec celui de l'antipyrine a permis d'identifier deux groupes : les bisphénols dont le taux de transfert est significativement plus faible que l'antipyrine et ceux dont il n'est pas significativement différent. Ainsi, six bisphénols possèdent un taux de transfert similaire à celui de l'antipyrine. Il s'agit du BPA ($25,70 \pm 9,85\%$), du BPB ($26,45 \pm 9,11$), du 3-3'BPA ($22,86 \pm 8,75\%$), du BPF ($22,52 \pm 11,10\%$), du BPE ($21,52 \pm 8,86\%$), du BP4-4' ($21,13 \pm 9,27\%$) et du BPAP ($18,10 \pm 7,15\%$). Les taux de transfert du BPBP ($7,99 \pm 2,66\%$), du BPZ ($9,87 \pm 3,94\%$), du BPC ($12,25 \pm 4,55 \%$), du BPM ($14,48 \pm 7,34 \%$), du BPP ($14,68 \pm 6,68 \%$), du BPAF ($16,38 \pm 5, \%$), du BPS ($2,45 \pm 0,77\%$) et du BPFL ($1,98 \pm 0,70\%$) sont significativement plus faibles que celui de l'antipyrine.

Tableau 6 : Moyennes et écart-types des taux de transferts placentaires (%), clairances placentaires (ml/min) et indices de clairance des 15 bisphénols perfusés en mélange sur 5 placentas

n=5	Taux de transfert (%)		Clairance placentaire (ml/min)		Indice de clairance	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
Antipyrine	31.68	12.64	1.671	0.614	1	1
BPA	25.70	9.85	1.345	0.467	0.813	0.063
BPS	2.45	0.77	0.129	0.039	0.079	0.017
BPF	22.52	11.10	1.164	0.518	0.696	0.144
BPAF	16.38	5.95	0.857	0.284	0.522	0.072
BPB	26.45	9.11	1.387	0.436	0.842	0.079
BPE	21.52	8.86	1.115	0.401	0.685	0.158
BPC	12.25	4.55	0.640	0.222	0.392	0.074
BP4-4'	21.13	9.27	1.105	0.455	0.663	0.136
3-3'BPA	22.86	8.75	1.196	0.414	0.722	0.070
BPAP	18.10	7.15	0.946	0.341	0.570	0.062
BPBP	7.99	2.66	0.420	0.135	0.257	0.046
BPP	14.68	6.68	0.770	0.326	0.451	0.047
BPM	14.48	7.34	0.763	0.367	0.444	0.148
BPZ	9.87	3.94	0.518	0.195	0.318	0.090
BPFL	1.98	0.70	0.105	0.039	0.065	0.020

Les taux de transfert de l'antipyrine et des bisphénols ont augmenté dès le début de la perfusion, jusqu'à atteindre un plateau au bout de 15 minutes. Les taux de transfert se sont par la suite maintenus jusqu'à la fin du temps de perfusion (Figure 10). Parmi les bisphénols, le BPA et le BPB présentent les taux de transfert les plus élevés, tandis que les plus faibles sont ceux du BPS et du BPFL.

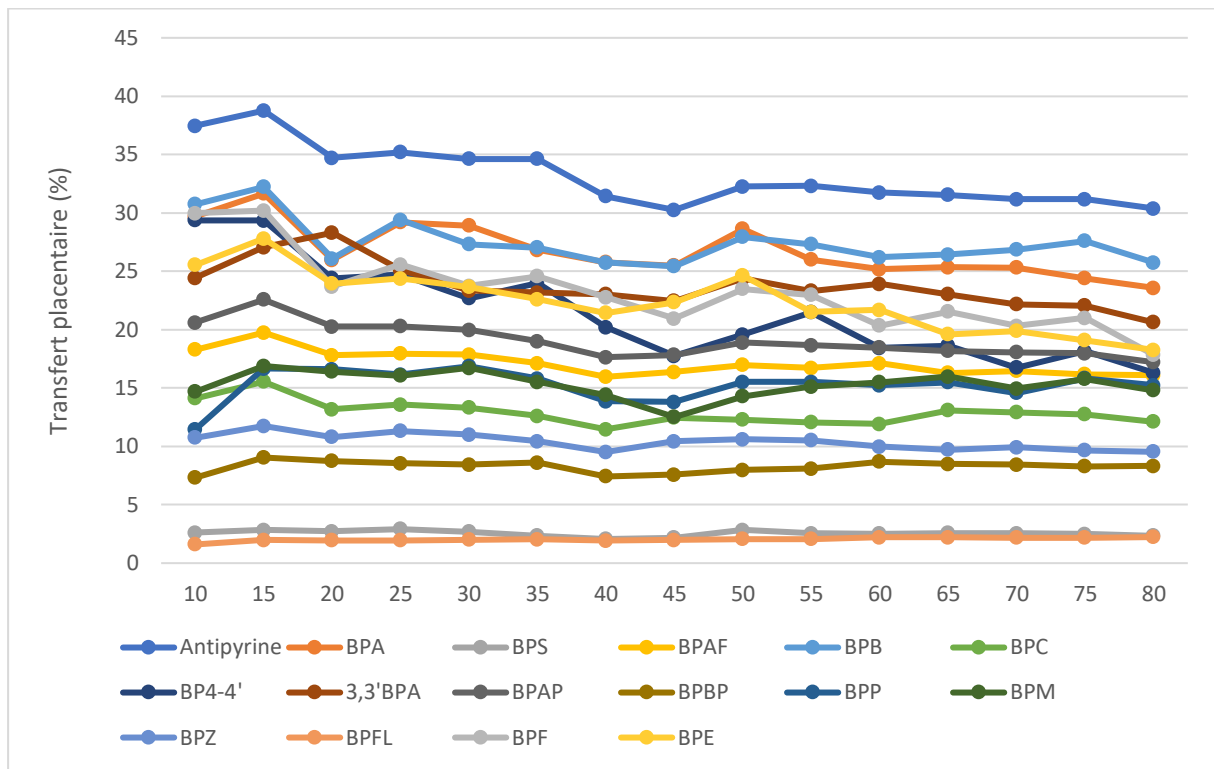


Figure 10 : Taux de transfert placentaire materno-fœtal moyens des 15 bisphénols perfusés en mélange sur les 5 placentas au cours de la période d'équilibre de la perfusion.

L'indice de clairance des bisphénols correspond au rapport entre le taux de transfert de chaque bisphénol et celui de l'antipyrine. Il a été calculé afin de s'affranchir de la variabilité inter-placentaire. La Figure 11 représente la moyenne (\pm écart-type) des indices de clairance obtenus sur les 5 placentas perfusés. Le groupe en gris correspond aux bisphénols dont le taux de transfert placentaire était comparable à celui de l'antipyrine. Leur indice de clairance variait de $0,84 \pm 0,08$ pour le BPB à $0,57 \pm 0,06$ pour le BPAP. Seul le BPAP avait un indice de clairance significativement plus faible que celui du BPB et du BPA (Gély et al. 2021). Le groupe en bleu correspond aux bisphénols dont le taux de transfert était significativement plus faible que celui de l'antipyrine. Le BPFL et le BPS avaient un indice de clairance significativement plus faible que tous les autres bisphénols étudiés ($0,06 \pm 0,02$ et $0,07 \pm 0,02$, respectivement). Les indices de clairance des autres bisphénols du même groupe variaient de $0,52 \pm 0,08$ pour le BPAF à $0,26 \pm 0,05$ pour le BPBP.

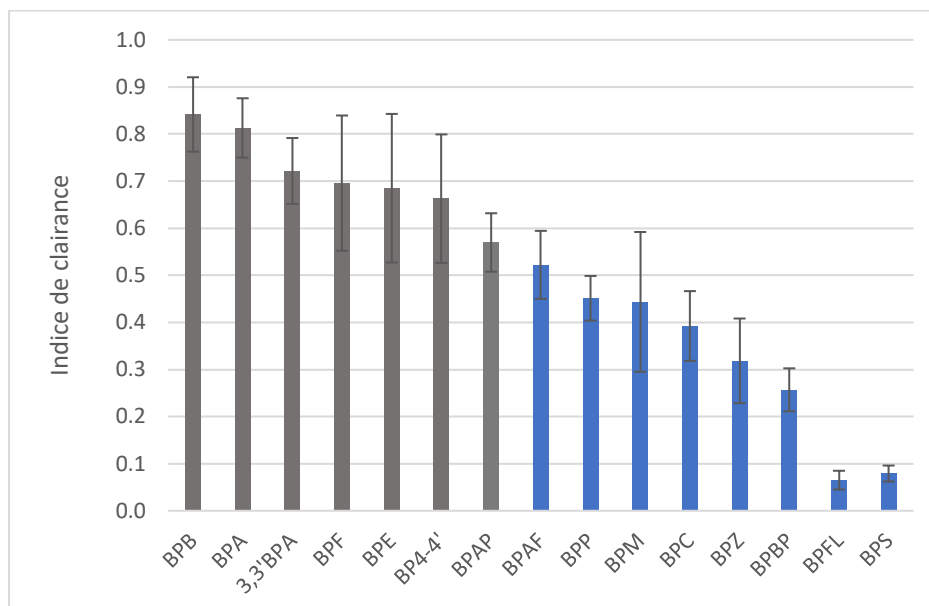


Figure 11 : Indices de clairance placentaire des 15 bisphénols (moyenne sur les 5 placentas perfusés \pm écart type). Deux groupes ont été identifiés : en gris les bisphénols dont le taux de transfert n'était pas significativement différent de celui de l'antipyrine, en bleu ceux dont le taux de transfert était significativement plus faible que celui de l'antipyrine.

IV. Discussion

Depuis quelques années déjà, le bisphénol A est remplacé dans ses différents domaines d'utilisation par certains de ses analogues, dont le BPS et le BPF. Les études sur ces nouveaux bisphénols restent limitées mais les premières données montrent leur utilisation croissante dans les produits de consommation courante et notamment dans les emballages alimentaires. La voie alimentaire constitue la principale source d'exposition aux bisphénols. Dans des études de biosurveillance, ces analogues structuraux du bisphénol A ont été mis en évidence dans des échantillons urinaires et sanguins, démontrant ainsi la réalité de l'exposition humaine. Le potentiel perturbateur endocrinien et le danger pour la santé humaine lié à l'exposition aux bisphénols émergents n'ont cependant pas été évalués au préalable, et il semblerait que la substitution du BPA par ces analogues nous expose à de nouveaux risques. L'inquiétude subsiste sur de potentiels effets à faible dose (relation dose-réponse non monotone non prouvée à ce jour), notamment au moment de l'exposition prénatale qui apparaît comme particulièrement critique (European Food Safety Authority 2015b; Müller et al. 2018). Dans la mesure où le BPA est aujourd'hui remplacé par des analogues structuraux dont les effets sur la santé humaine n'ont pas été étudiés au préalable, il semble urgent d'évaluer l'exposition humaine à ces potentiels perturbateurs endocriniens, en particulier pendant cette période clef du développement fœtal.

Cette étude avait pour but de déterminer le passage placentaire de 15 bisphénols analogues structuraux en mélange. Pour cela, le modèle de perfusion *ex vivo* du placenta humain à terme a été utilisé. L'antipyrine a été choisie comme marqueur de diffusion passive permettant d'une part d'évaluer l'intégrité placentaire et d'autre part de caractériser le passage placentaire de molécules liposolubles tels que les bisphénols. La clairance de l'antipyrine obtenue dans cette étude est comparable aux données précédemment rapportées, soit $2,24 \pm 0,68$ mL/min et $1,83 \pm 0,619$ mL/min, respectivement (Corbel et al. 2014; Grandin 2018). L'indice de clairance de chaque bisphénol, caractérisé par le rapport entre le taux de transfert du bisphénol et celui de l'antipyrine, a été utilisé pour comparer les différents bisphénols entre eux et les expériences en cocktail ou isolément, en s'affranchissant de la variabilité interplacentaire.

Les indices de clairance du BPA et du BPS (respectivement $0,813 \pm 0,063$ et $0,079 \pm 0,017$) obtenus pour cette perfusion de 15 bisphénols en mélange étaient semblables à ceux obtenus précédemment pour ces deux bisphénols perfusés isolément ($0,83 \pm 0,13$ et $0,0852 \pm 0,0515$) (Corbel et al. 2014; Grandin 2018). La perfusion simultanée des 15 bisphénols n'a donc pas interféré avec le mécanisme de transfert placentaire ce qui permet de valider cette approche en mélange.

Une large gamme de perméabilité placentaire a été observée pour les 15 bisphénols, de 26,45% pour le BPB à 1,98% pour le BPFL. Il s'agit pourtant de molécules dont les caractéristiques physico-chimiques (poids moléculaire, coefficient de partage octanol-eau et constante d'acidité) sont proches et ne permettent pas à elles seules d'expliquer les différences de passage placentaire. Les composés neutres ayant un poids moléculaire inférieur à 600 Da, liposolubles ($\text{LogP} > 1$) et avec peu de sites de liaison hydrogène présentent généralement un potentiel élevé de diffusion passive à travers le placenta (Syme, Paxton, Keelan 2004). Or ici, cela n'a été observé que pour 7 bisphénols parmi 15 perfusés. Il s'agit du BPB, BPA, BPE, BPF, BP4-4', 3-3'BPA et du BPAP pour lesquels le taux de transfert materno-foetal était comparable à celui de l'antipyrine, qui est une molécule non liée aux protéines plasmatiques et marqueur de diffusion passive. Deux bisphénols, le BPFL et le BPS, ont présenté des taux de transfert placentaire très limités (1,98% et 2,45% respectivement). Les 6 autres bisphénols testés, le BPBP, le BPC, le BPP, le BPZ et le BPAF, ont présenté des taux de transfert materno-foetal intermédiaires, significativement plus faibles que

l'antipyrine. Ces résultats sont en faveur d'un transport actif majoritaire pour ces bisphénols, ou d'un mécanisme de diffusion limitée. L'analogie structurale des bisphénols ne permet pas à elle seule, de prédire le transfert placentaire de ces molécules. Par exemple, le BPFL a un faible indice de clairance alors que son affinité pour les lipides est élevée (Figure 12).

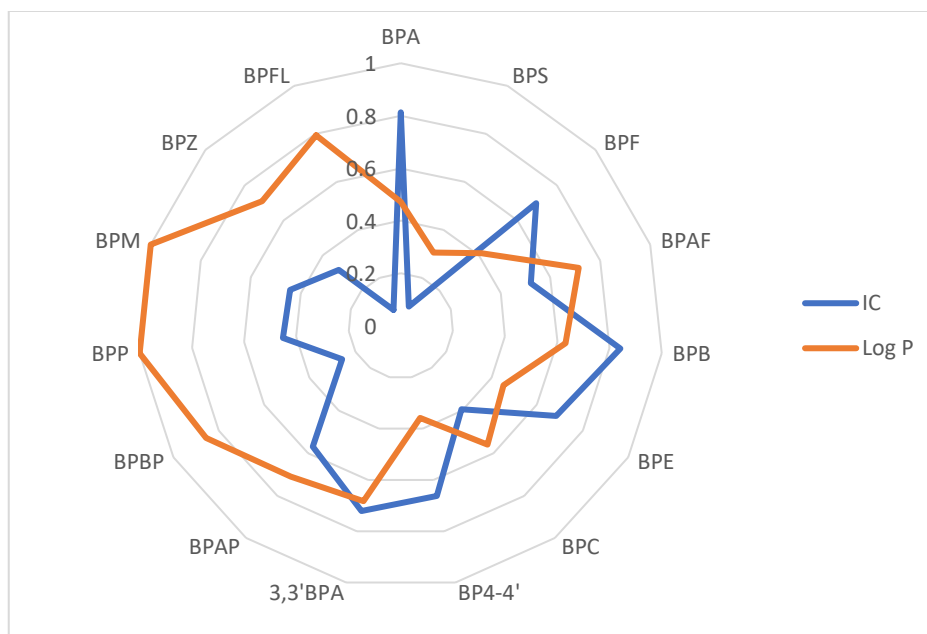


Figure 12 : Moyennes des indices de clairances (IC) des 15 bisphénols obtenus sur les cinq perfusions en mélange et leur coefficient de partage octanol-eau respectif normalisé (LogP)

La liaison aux protéines plasmatiques des bisphénols pourrait également limiter le passage placentaire, car seule la fraction libre peut diffuser à travers le placenta. Une étude portant sur l'affinité de huit bisphénols pour deux protéines plasmatiques, l'albumine sérique humaine (HSA) et l'alpha-1-glycoprotéine (AGP), déterminée par chromatographie liquide biomimétique ou *in silico*, a permis de mettre en évidence une liaison des bisphénols aux protéines plasmatiques essentiellement non spécifique et dépendante de leur lipophilie (Grumetto et al. 2019). Selon cette étude, les bisphénols les plus lipophiles auraient tendance à se lier davantage aux protéines plasmatiques. En particulier, le BPM et le BPAF, plus lipophiles que le BPA, avaient une fraction liée aux protéines plasmatiques plus grande que les autres bisphénols testés (Tableau 1). Ainsi, les bisphénols pour lesquels le passage placentaire était élevé présentaient des fractions non liées aux protéines plasmatiques prédites globalement plus élevées (BPE : 5,82 %, BPF : 7,58 %, BPA : 4,09 % et BPB : 3,21 %) que ceux avec un taux de transfert limité (BPM : 0,98%, BPAF : 1,10%). En revanche, le BPS, pourtant

faiblement lié aux protéines plasmatiques (fraction libre prédite : 13,23%), traverse très peu la barrière placentaire. L'implication de protéines d'efflux limitant le passage placentaire pourrait expliquer le passage très limité de ce bisphénol.

Par ailleurs, cette étude ne prend en compte que le passage materno-fœtal et non foeto-maternel. Afin d'avoir une idée de l'exposition réelle du fœtus aux bisphénols, l'étude du transfert foeto-maternel serait nécessaire. Il a déjà été montré que le BPA possédait un indice de clairance similaire dans les sens materno-fœtal et foeto-maternel (Corbel et al. 2014). Le BPS, lui, passe avec plus d'efficacité du fœtus vers la mère que de la mère au fœtus (Grandin et al., 2019). Cependant, le modèle *ex vivo* ne permet pas de prendre en compte le métabolisme placentaire et les formes conjuguées des bisphénols. Or, le modèle ovin, pertinent vis-à-vis de l'homme en termes de physiologie de la gestation, a permis de mettre en évidence une accumulation de BPS dans le compartiment fœtal. En effet, après son transfert dans le compartiment fœtal, le BPS est métabolisé principalement en son principal métabolite, le Bisphénol S glucuronide (BPSG). Or le BPSG a un passage fœto-maternel très limité, qui conduit à son accumulation dans le compartiment fœtal. Son élimination par le placenta est en effet très lente et nécessite sa réactivation préalable en bisphénol aglycone dans le compartiment fœtal. Par conséquent, malgré un transfert materno-fœtal plus faible du BPS par rapport au BPA, la plus grande persistance du BPS dans le compartiment fœtal conduit à une exposition fœtale similaire au BPS et au BPA après une même exposition gestationnelle répétée (Grandin 2018).

Une autre limite de cette étude est que les résultats ne sont représentatifs que des échanges ayant lieu à la fin de la gestation, période pendant laquelle l'exposition interne du fœtus est supposée maximale. En effet, les modifications physiologiques au cours de la gestation augmentent la capacité d'échange placentaire au fur et à mesure via l'augmentation du débit sanguin et de la surface d'échange associée à un amincissement de celle-ci.

En conclusion, le modèle *ex vivo* de placenta humain a permis de déterminer pour ces 15 bisphénols perfusés en cocktail le taux de transfert placentaire, la clairance placentaire et l'indice de clairance dans la direction materno-fœtale. Les 15 analogues de bisphénols décrivent une large gamme de taux de transfert, entre 1,98 et 26,45 %, et d'indices de clairance compris entre 0,065 et 0,842. Selon ces données, privilégier

l'utilisation des bisphénols à faible diffusion placentaire pourrait permettre de diminuer les risques liés à l'exposition fœtale à ces molécules. Cependant, le modèle *ex vivo* ne prend pas en compte l'ensemble des mécanismes déterminant l'exposition fœtale tels que le métabolisme fœtal et maternel.

L'efficacité du transfert placentaire n'a pas pu être expliquée par des différences de propriétés physico-chimiques. Ainsi, le développement de modèles de relation quantitative structure-activité (QSAR) prédictifs du passage placentaire pourrait permettre d'évaluer le potentiel d'exposition fœtale de cette famille de bisphénols émergents et donc de cribler les substituts du BPA, afin d'éviter des substitutions regrettables.

BIBLIOGRAPHIE

ALMEIDA, Susana, RAPOSO, António, ALMEIDA-GONZÁLEZ, Maira et CARRASCOSA, Conrado, 2018. Bisphenol A: Food Exposure and Impact on Human Health: Bisphenol A and human health effect... *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. novembre 2018. Vol. 17, n° 6, pp. 1503-1517. DOI 10.1111/1541-4337.12388.

ANSES, 2013a. *Substances reprotoxiques et perturbateurs endocriniens. Composés de la famille des bisphénols M, S, B, AP, AF, F et BADGE*. Rapport d'expertise collective.

ANSES, 2013b. Tome 1 : *Evaluation des risques du bisphénol A (BPA) pour la santé humaine*. Rapport d'expertise collective. ANSES.

BEAUSOLEIL, Claire, 2021. *Derivation of Bisphenol S and Bisphenol F HBM Guidance Values (HBM-GVs): BPS and BPF HBM-GVGenPop for the general population & BPS and BPF HBM-GVWorker for occupationally exposed adults*. 2021.

BJÖRNSDOTTER, Maria K., DE BOER, Jacob et BALLESTEROS-GÓMEZ, Ana, 2017. Bisphenol A and replacements in thermal paper: A review. *Chemosphere*. septembre 2017. Vol. 182, pp. 691-706. DOI 10.1016/j.chemosphere.2017.05.070.

CHAMPMARTIN, Catherine, MARQUET, Fabrice, CHEDIK, Lisa, DÉCRET, Marie-Josèphe, AUBERTIN, Matthieu, FERRARI, Elisabeth, GRANDCLAUDE, Marie-Christine et COSNIER, Frédéric, 2020. Human in vitro percutaneous absorption of bisphenol S and bisphenol A: A comparative study. *Chemosphere*. août 2020. Vol. 252, pp. 126525. DOI 10.1016/j.chemosphere.2020.126525.

CHEN, Da, KANNAN, Kurunthachalam, TAN, Hongli, ZHENG, Zhengui, FENG, Yong-Lai, WU, Yan et WIDELKA, Margaret, 2016. Bisphenol Analogues Other Than BPA: Environmental Occurrence, Human Exposure, and Toxicity • A Review. *Environ. Sci. Technol.* 2016. pp. 16.

COMMISSION EUROPÉENNE, 2011. *Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food*. 2011.

CORBEL, T., GAYRARD, V., PUEL, S., LACROIX, M.Z., BERREBI, A., GIL, S., VIGUIÉ, C., TOUTAIN, P.-L. et PICARD-HAGEN, N., 2014. Bidirectional placental transfer of Bisphenol A and its main metabolite, Bisphenol A-Glucuronide, in the isolated perfused human placenta. *Reproductive Toxicology*. août 2014. Vol. 47, pp. 51-58. DOI 10.1016/j.reprotox.2014.06.001.

ECHA, 2020. *Bisphenol S has replaced bisphenol A in thermal paper* [en ligne]. 2020. Disponible à l'adresse : <https://echa.europa.eu/fr/-/bisphenol-s-has-replaced-bisphenol-a-in-thermal-paper>

EMBRYOLOGIE HUMAINE, 2021. Les différents types de placentas. *Embryologie humaine*. [en ligne]. 2021. [Consulté le 20 septembre 2021]. Disponible à l'adresse : <https://www.embryology.ch/francais/fplacenta/type01.html>

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2015a. La sécurité du bisphénol A expliquée par l'EFSA: avis scientifique sur le bisphénol A (2015). [en ligne]. LU, 2015. [Consulté le 15 septembre 2021]. Disponible à l'adresse : <https://data.europa.eu/doi/10.2805/192718>

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2015b. Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs. *EFSA Journal* [en ligne]. 2015. N° 2015;13(1):3978. [Consulté le 15 septembre 2021]. DOI 10.2903/j.efsa.2015.3978. Disponible à l'adresse : <https://data.europa.eu/doi/10.2903/j.efsa.2015.3978>

EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2011. *Guideline on Bioanalytical Method Validation* [en ligne]. 21 juillet 2011. Disponible à l'adresse : https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-bioanalytical-method-validation_en.pdf

FILLOL, Clémence, OLEKO, Amivi, SAOUDI, Abdesattar, ZEGHNOUN, Abdelkrim, BALICCO, Alexis, GANE, Jessica, RAMBAUD, Loïc, LEBLANC, Alain, GAUDREAU,

Éric, MARCHAND, Philippe, LE BIZEC, Bruno, BOUCHART, Valérie, LE GLÉAU, Florent, DURAND, Gaël et DENYS, Sébastien, 2021. Exposure of the French population to bisphenols, phthalates, parabens, glycol ethers, brominated flame retardants, and perfluorinated compounds in 2014–2016: Results from the Esteban study. *Environment International*. février 2021. Vol. 147, pp. 106340. DOI 10.1016/j.envint.2020.106340.

GAVARD, Laurent, BEGHIN, Delphine, FORESTIER, François, CAYRE, Yvon, PEYTAVIN, Gilles, MANDELBROT, Laurent, FARINOTTI, Robert et GIL, Sophie, 2009. Contribution and limit of the model of perfused cotyledon to the study of placental transfer of drugs. Example of a protease inhibitor of HIV: Nelfinavir. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. décembre 2009. Vol. 147, n° 2, pp. 157-160. DOI 10.1016/j.ejogrb.2009.08.007.

GÉLY, Clémence A., LACROIX, Marlène Z., MORIN, Mathieu, VAYSSIÈRE, Christophe, GAYRARD, Véronique et PICARD-HAGEN, Nicole, 2021. Comparison of the materno-fetal transfer of fifteen structurally related bisphenol analogues using an ex vivo human placental perfusion model. *Chemosphere*. août 2021. Vol. 276, pp. 130213. DOI 10.1016/j.chemosphere.2021.130213.

GRANDIN, Flore, 2018. *Développement d'une approche intégrative pour évaluer l'exposition interne foetale au Bisphénol*. Thèse de doctorat de l'université de Toulouse. Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries (SEVAB). Toxicologie Alimentaire (ToxAlim) : Institut National Polytechnique de Toulouse (Toulouse INP).

GRUMETTO, Lucia, BARBATO, Francesco et RUSSO, Giacomo, 2019. Scrutinizing the interactions between bisphenol analogues and plasma proteins: Insights from biomimetic liquid chromatography, molecular docking simulations and in silico predictions. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. mai 2019. Vol. 68, pp. 148-154. DOI 10.1016/j.etap.2019.02.008.

HORIZON2020 PROGRAMME, 2020. *HBM4UE Bisphénols: what you need to know.pdf*. 2020.

HUSØY, T., ANDREASSEN, M., HJERTHOLM, H., CARLSEN, M.H., NORBERG, N., SPRONG, C., PAPADOPOULOU, E., SAKHI, A.K., SABAREDZOVIC, A. et DIRVEN, H.A.A.M., 2019. The Norwegian biomonitoring study from the EU project EuroMix: Levels of phenols and phthalates in 24-hour urine samples and exposure sources from food and personal care products. *Environment International*. novembre 2019. Vol. 132, pp. 105103. DOI 10.1016/j.envint.2019.105103.

IHDE, Erin Speiser, ZAMUDIO, Stacy, LOH, Ji Meng, ZHU, Yalin, WOYTANOWSKI, John, ROSEN, Lawrence, LIU, Min et BUCKLEY, Brian, 2018. Application of a novel mass spectrometric (MS) method to examine exposure to Bisphenol-A and common substitutes in a maternal fetal cohort. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*. 17 février 2018. Vol. 24, n° 2, pp. 331-346. DOI 10.1080/10807039.2017.1381831.

INERIS, 2020. Information réglementaire Substitution des bisphénols.webarchive. [en ligne]. 2020. Disponible à l'adresse : <https://substitution-bp.ineris.fr/fr/information-reglementaire>

INERIS, 2021. Identification du bisphénol B en tant que substance extrêmement préoccupante (SVHC) selon la Règlementation européenne REACH. [en ligne]. 19 juillet 2021. Disponible à l'adresse : <https://substitution-bp.ineris.fr/fr/actualites/identification-bisphenol-b-en-tant-que-substance-extremement-preoccupante-svhc-selon>

KHMIRI, Imèn, CÔTÉ, Jonathan, MANTHA, Marc, KHEMIRI, Rania, LACROIX, Marlène, GELY, Clémence, TOUTAIN, Pierre-Louis, PICARD-HAGEN, Nicole, GAYRARD, Véronique et BOUCHARD, Michèle, 2020. Toxicokinetics of bisphenol-S and its glucuronide in plasma and urine following oral and dermal exposure in volunteers for the interpretation of biomonitoring data. *Environment International*. mai 2020. Vol. 138, pp. 105644. DOI 10.1016/j.envint.2020.105644.

LACROIX, M.Z., PUEL, S., COLLET, S.H., CORBEL, T., PICARD-HAGEN, N., TOUTAIN, Pi., VIGUIÉ, C. et GAYRARD, V., 2011. Simultaneous quantification of bisphenol A and its glucuronide metabolite (BPA-G) in plasma and urine: Applicability to toxicokinetic investigations. *Talanta*. septembre 2011. Vol. 85, n° 4, pp. 2053-2059.

DOI 10.1016/j.talanta.2011.07.040.

LEHMLER, Hans-Joachim, LIU, Buyun, GADOGBE, Manuel et BAO, Wei, 2018. Exposure to Bisphenol A, Bisphenol F, and Bisphenol S in U.S. Adults and Children: The National Health and Nutrition Examination Survey 2013–2014. *ACS Omega*. 30 juin 2018. Vol. 3, n° 6, pp. 6523-6532. DOI 10.1021/acsomega.8b00824.

LIAO, Chunyang et KANNAN, Kurunthachalam, 2011. Widespread Occurrence of Bisphenol A in Paper and Paper Products: Implications for Human Exposure. *Environmental Science & Technology*. novembre 2011. Vol. 45, n° 21, pp. 9372-9379. DOI 10.1021/es202507f.

LIAO, Chunyang, LIU, Fang et KANNAN, Kurunthachalam, 2012. Bisphenol S, a New Bisphenol Analogue, in Paper Products and Currency Bills and Its Association with Bisphenol A Residues. *Environ. Sci. Technol.* 2012. pp. 8.

LIU, Jiaying, LI, Jingguang, WU, Yongning, ZHAO, Yunfeng, LUO, Fengji, LI, Shuming, YANG, Lin, MOEZ, Elham K., DINU, Irina et MARTIN, Jonathan W., 2017. Bisphenol A Metabolites and Bisphenol S in Paired Maternal and Cord Serum. *Environmental Science & Technology*. 21 février 2017. Vol. 51, n° 4, pp. 2456-2463. DOI 10.1021/acs.est.6b05718.

LIU, Jiaying et MARTIN, Jonathan W., 2019. Comparison of Bisphenol A and Bisphenol S Percutaneous Absorption and Biotransformation. *Environmental Health Perspectives*. juin 2019. Vol. 127, n° 6, pp. 067008. DOI 10.1289/EHP5044.

LORBER, Matthew, SCHECTER, Arnold, PAEPKE, Olaf, SHROPSHIRE, William et BIRNBAUM, Linda, 2015. Exposure assessment of adult intake of bisphenol A (BPA) with emphasis on canned food dietary exposures. *Environ Int.* 2015. pp. 20. DOI doi:10.1016/j.envint.2015.01.008.

MA, Wan-Li, SUBEDI, Bikram et KANNAN, Kurunthachalam, 2014. The Occurrence of Bisphenol A, Phthalates, Parabens and Other Environmental Phenolic Compounds in House Dust: A Review. *Current Organic Chemistry*. 21 octobre 2014. Vol. 18, n° 17, pp. 2182-2199. DOI 10.2174/1385272819666140804230205.

MÜLLER, Judith Elisabeth, MEYER, Nicole, SANTAMARIA, Clarisa Guillermina, SCHUMACHER, Anne, LUQUE, Enrique Hugo, ZENCLUSSEN, Maria Laura, RODRIGUEZ, Horacio Adolfo et ZENCLUSSEN, Ana Claudia, 2018. Bisphenol A exposure during early pregnancy impairs uterine spiral artery remodeling and provokes intrauterine growth restriction in mice. *Scientific Reports*. décembre 2018. Vol. 8, n° 1, pp. 9196. DOI 10.1038/s41598-018-27575-y.

PAN, Yanan, DENG, Man, LI, Juan, DU, Bibai, LAN, Shenyu, LIANG, Xinxin et ZENG, Lixi, 2020. Occurrence and Maternal Transfer of Multiple Bisphenols, Including an Emerging Derivative with Unexpectedly High Concentrations, in the Human Maternal–Fetal–Placental Unit. *Environmental Science & Technology*. 17 mars 2020. Vol. 54, n° 6, pp. 3476–3486. DOI 10.1021/acs.est.0c00206.

RESEARCHANDMARKETS, 2020. Worldwide Acetone Industry to 2027 - Impact of COVID-19 on the Market.pdf. . septembre 2020.

RUSSO, Giacomo, VARRIALE, Fabio, BARBATO, Francesco et GRUMETTO, Lucia, 2019. Are Canned Beverages Industries Progressively Switching to Bisphenol AF? *Journal of Food Science*. novembre 2019. Vol. 84, n° 11, pp. 3303–3311. DOI 10.1111/1750-3841.14833.

SANTÉ PUBLIQUE FRANCE, 2017. *Imprégnation des femmes enceintes par les polluants de l'environnement en France en 2011. Volet périnatal du programme national de biosurveillance. Tome 1 : polluants organiques.*

SANTÉ PUBLIQUE FRANCE, 2019. *Imprégnation de la population française par les bisphénols A, S et F. Programme national de biosurveillance, Esteban 2014-2016.*

SHELBY, Michael D., 2008. NTP-CERHR monograph on the potential human reproductive and developmental effects of bisphenol A. *Ntp Cerhr Mon.* septembre 2008. N° 22, pp. v, vii–ix, 1– 64 passim.

SYME, Michael R, PAXTON, James W et KEELAN, Jeffrey A, 2004. Drug Transfer and Metabolism by the Human Placenta: *Clinical Pharmacokinetics*. 2004. Vol. 43, n° 8, pp. 487–514. DOI 10.2165/00003088-200443080-00001.

TYL, Rochelle W., MYERS, Christina B., MARR, Melissa C., SLOAN, Carol S., CASTILLO, Nora P., VESELICA, M. Michael, SEELY, John C., DIMOND, Stephen S., VAN MILLER, John P., SHIOTSUKA, Ronald N., BEYER, Dieter, HENTGES, Steven G. et WAECHTER, John M., 2008. Two-Generation Reproductive Toxicity Study of Dietary Bisphenol A in CD-1 (Swiss) Mice. *Toxicological Sciences*. août 2008. Vol. 104, n° 2, pp. 362-384. DOI 10.1093/toxsci/kfn084.

US EPA, 2015. Partnership to Evaluate Alternatives to Bisphenol A in Thermal Paper Safer Choice US EPA.webarchive. EPA [en ligne]. 2015. Disponible à l'adresse : <https://PartnershiptoEvaluateAlternativestoBisphenolAinThermalPaperSaferChoiceUSEPA.webarchive>

USMAN, Afia, 2016. From BPA to its analogues: Is it a safe journey? . 2016. pp. 12.
VOM SAAL, Frederick S. et HUGHES, Claude, 2005. An Extensive New Literature Concerning Low-Dose Effects of Bisphenol A Shows the Need for a New Risk Assessment. *Environmental Health Perspectives*. août 2005. Vol. 113, n° 8, pp. 926-933. DOI 10.1289/ehp.7713.

VOM SAAL, Frederick S. et WELSHONS, Wade V., 2006. Large effects from small exposures. II. The importance of positive controls in low-dose research on bisphenol A. *Environmental Research*. janvier 2006. Vol. 100, n° 1, pp. 50-76. DOI 10.1016/j.envres.2005.09.001.

WAIDYANATHA, Suramy, MATHEWS, James M., PATEL, Purvi R., BLACK, Sherry R., SNYDER, Rodney W. et FENNELL, Timothy R., 2015. Disposition of bisphenol AF, a bisphenol A analogue, in hepatocytes *in vitro* and in male and female Harlan Sprague-Dawley rats and B6C3F1/N mice following oral and intravenous administration. *Xenobiotica*. 2 septembre 2015. Vol. 45, n° 9, pp. 811-819. DOI 10.3109/00498254.2015.1021732.

YE, Xiaoyun, WONG, Lee-Yang, KRAMER, Josh, ZHOU, Xiaoliu, JIA, Tao et CALAFAT, Antonia M., 2015. Urinary Concentrations of Bisphenol A and Three Other Bisphenols in Convenience Samples of U.S. Adults during 2000–2014. *Environmental Science & Technology*. 6 octobre 2015. Vol. 49, n° 19, pp. 11834-11839. DOI 10.1021/acs.est.5b02135.

ZHANG, Bo, HE, Yuan, ZHU, Hongkai, HUANG, Xiongfei, BAI, Xueyuan, KANNAN, Kurunthachalam et ZHANG, Tao, 2020a. Concentrations of bisphenol A and its alternatives in paired maternal–fetal urine, serum and amniotic fluid from an e-waste dismantling area in China. *Environment International*. mars 2020. Vol. 136, pp. 105407. DOI 10.1016/j.envint.2019.105407.

Pénélope PHILBERT

Titre : Etude du passage placentaire d'un mélange de bisphénols sur le modèle de placenta humain perfusé.

Mots clés : bisphénols, perturbateur endocrinien, placenta, transfert placentaire, exposition foétale

Les restrictions de l'utilisation du Bisphénol A (BPA) dans les produits de consommation courante ont conduit à sa substitution progressive par des analogues structuraux, notamment le BPS et le BPF. Les études de biosurveillance montrent une exposition humaine croissante à ces deux bisphénols. En outre, ces bisphénols présentent un potentiel œstrogénique similaire à celui du BPA. Le danger lié à leur utilisation soulève des inquiétudes, particulièrement pendant la phase critique de la gestation en raison de la sensibilité accrue du fœtus aux perturbateurs endocriniens. Le modèle de perfusion placentaire *ex vivo* en double circuit ouvert a permis de comparer le transfert materno-foetal de 15 bisphénols : les BPA, BPS, BPB, BPF, BPE, BPZ, BPAP, BPAF, 3-3'BPA, BP4-4', BPP, BPC, BPBP, BPM et le BPFL. Les taux de transfert placentaire des BPB, BPA, BPF, BPAP, BP4-4' et du 3-3'BPA étaient similaires à celui de l'antipyrine, ce qui indique que leur passage placentaire se réalise essentiellement par diffusion passive. Au contraire, le BPS et le BPF ont présenté des taux de transfert placentaire très limités. Le passage placentaire des BPZ, BPC, BPBP, BPAF, BPP et du BPM était intermédiaire entre les deux précédents groupes. Cela suggère un transfert actif ou une diffusion passive limitée. Cette étude apporte de nouvelles connaissances pour évaluer les risques liés à l'exposition à 15 bisphénols pendant la période critique de la gestation.

Title: Placental transfer of bisphenols in mixture using the perfused human placenta model.

Key words: bisphenols, endocrine disruptor, placenta, placental transfer, fetal exposure

Restrictions on the use of BPA in consumer products have led to its progressive substitution by structural analogues. Among them, BPS and BPF are the main substitutes to BPA in industry. Biomonitoring studies showed the increasing human exposure to these two alternatives. These bisphenols have an estrogenic potential close to that of BPA. The hazard associated with their use raises concerns, particularly during the critical period of pregnancy due to the increased sensitivity of the fetus to endocrine disruptors. Using the *ex vivo* placental perfusion model in a double open circuit, we compared the maternal-fetal transfer of 15 bisphenols: BPA, BPS, BPB, BPF, BPE, BPZ, BPAP, BPAF, 3-3'BPA, BP4-4', BPP, BPC, BPBP and BPFL. Placental transfer rates of BPB, BPA, BPF, BPAP, BP4-4', and 3-3'BPA were similar to that of antipyrine, indicating that their placental passage is primarily by passive diffusion. In contrast, BPS and BPF showed very limited placental transfer rates. Placental passage of BPZ, BPC, BPBP, BPAF, BPP, and BPM was intermediate between the previous two groups, suggesting active transfer or limited passive diffusion. This study provides new knowledge to assess the risks associated with exposure to 15 bisphenols during the critical period of gestation.