

Article original

Dosage des métabolites urinaires des éthers de glycol par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Determination of urinary metabolites of glycol ethers by gas chromatography mass spectrometry

Laurence Labat^{1*}, Luc Humbert¹, Betty Dehon¹, Luc Multigner², Ronan Garlantezec², Catherine Nisse³, Michel Lhermitte¹

¹ Laboratoire de Toxicologie et Génopathies, CHRU de Lille, Avenue du Pr. J. Leclercq, 59037 Lille Cedex, France

² INSERM U 625, Université Rennes I, 35042 Rennes Cedex, France

³ Service de Pathologie Professionnelle et Environnement, CHRU de Lille, 1 Avenue Oscar Lambret, 59037 Lille Cedex, France

Résumé – Objectif : Les éthers de glycol sont utilisés dans de nombreuses préparations à usage professionnel ou domestique, en particulier en tant que solvant. Les propriétés reprotoxiques de certains sont principalement liées à leur biotransformation dans l'organisme. Les métabolites acides sont éliminés par voie urinaire, ce qui en fait des indicateurs intéressants pour la surveillance en milieu professionnel ou en santé environnementale. Nous présentons une nouvelle méthode de dosage en chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). **Méthodes :** La détection se fait en mode d'ionisation chimique négative avec du méthane comme gaz réactant et l'acquisition est réalisée en mode full scan de 85 à 152 *m/z*. Cette méthode permet une surveillance biologique par le dosage simultané de huit métabolites urinaires : les acides méthoxyacétique (MAA), méthoxy-éthoxyacétique (MEAA), éthoxyacétique (EAA), éthoxy-éthoxyacétique (EEAA), 2-butoxyacétique (2-BAA), propoxyacétique (PrAA), phénoxyacétique (PhAA) et méthoxypropionique (MPA). **Résultats :** La méthode est linéaire de 0,05 à 2 mg/L pour MAA, MEAA, EAA, EEAA, PrAA et MPA et de 0,01 à 2 mg/L pour 2-BAA et PhAA avec des coefficients de régression supérieurs à 0,99 pour chacun des métabolites. Les limites de détection sont de 0,01 mg/L pour les six premiers métabolites et de 0,001 mg/L pour 2-BAA et PhAA. Les répétabilité et les fidélités intermédiaires déterminées pour les huit métabolites pour une concentration de 0,5 mg/L sont inférieures à 10 %. Les premiers résultats d'une étude pilote (étude INSERM) permettant une estimation de l'exposition aux éthers de glycols dans une population de femmes enceintes sont présentés. **Conclusion :** Ces résultats montrent que notre méthode de dosage en GC-MS est suffisamment spécifique et sensible pour permettre la surveillance de personnes exposées à de faibles niveaux en milieu professionnel ou environnemental.

Mots clés : Éthers de glycol, chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse, environnement, exposition professionnelle

Abstract – Introduction: Glycol ethers are solvents that are present in a large number of products used commercially and domestically. Reprotoxic properties of some of them are associated with the formation of urinary metabolites. Biological monitoring of these alkoxy-carboxylic acids in urine is useful in monitoring occupational or environmental exposures. We present a new method developed by gas chromatography equipped with a mass spectrometry (GC-MS). **Methods:** Detection is realised in negative ionization mode with methane in full scan acquisition between 85 and 152 *m/z*. This method provides a procedure for the simultaneous urine analysis of eight acids: methoxyacetic (MAA), methoxy-ethoxyacetic (MEAA), ethoxyacetic (EAA), ethoxy-ethoxyacetic (EEAA), 2-butoxyacetic (2-BAA), propoxyacetic (PrAA), phenoxyacetic (PhAA) and methoxypropionic (MPA) acids. **Results:** The method is linear ($r^2 > 0.99$) from 0.05 to 2 mg/L for MAA, MEAA, EAA, EEAA, PrAA and MPA and from 0.01 to 2 mg/L for 2-BAA and PhAA.

* Correspondance : Laurence Labat, Tél. (33) 3 20 44 55 61, Fax (33) 3 20 44 47 29, laurencelabat@yahoo.fr

The limits of detection of the first six metabolites are 0.01 mg/L and 0.001 mg/L for 2-BAA and PhAA. Repeatability and intermediate fidelity for the eight metabolites for an urinary concentration of 0.5 mg/L are less than 10%. First results of a biomonitoring pilot study of INSERM Unit 625 are described. **Conclusion:** This study is an evaluation of exposure to glycol ethers during pregnancy in the general population. The results of this preliminary study show that GC-MS method developed is specific and sensible enough for the evaluation of glycol ethers exposures at low levels in the general population.

Key words: Glycol ethers, gas chromatography, mass spectrometry, environment, occupational exposure

Reçu le 15 décembre 2008, accepté après modifications le 20 janvier 2009

Publication en ligne le 28 avril 2009

1 Introduction

Les éthers de glycols forment une famille d'environ 80 substances présentes dans de nombreux produits industriels et domestiques. Ce sont des molécules dérivées de l'éthylène glycol ou du propylène glycol. Leur nature amphiphile les rend miscibles dans l'eau et dans la plupart des solvants organiques et permet d'expliquer leur très grande utilisation.

Leur faible toxicité comparée à de nombreux autres solvants de mêmes propriétés, a également multiplié leur présence dans des produits comme les colles, les encres, les vernis, les peintures, les produits d'entretien, les produits cosmétiques et les produits pharmaceutiques. On connaît actuellement la toxicité plus importante des dérivés de la série éthylénique et en particulier du monométhyl éther (EGME) et du monoéthyl éther (EGEE) [1, 2] (tableau I). En plus d'une toxicité hématologique [3], il semble exister un lien entre l'infertilité masculine et l'exposition chronique à ces produits [1, 2]. Les cas publiés d'intoxication aiguë chez l'homme par des éthers de glycol sont très nombreux [1, 2].

Le métabolisme des éthers de glycols dépend de la position du groupement alcool sur la chaîne alkyle (figure 1). Les éthers de glycol de la série éthylénique possèdent une fonction alcool primaire qui se métabolise dans l'organisme par la voie de l'alcool déshydrogénase puis de l'aldéhyde déshydrogénase à l'origine de la formation d'acides alkoxyacétiques éliminés dans les urines. Certains de ces acides alkoxyacétiques sont reprotoxiques, notamment l'acide méthoxyacétique (MAA) et l'acide éthoxyacétique (EAA) (tableau I). Ils ont été décrits comme possédant la toxicité la plus importante de l'ensemble des métabolites. L'acide 2-butoxyacétique (2-BAA) produit par le métabolisme de l'éthylène glycol butyl éther (EGBE) a été décrit comme le plus puissant composé pour ses propriétés hémolytiques [1, 2].

Dans la série propylénique des éthers de glycol, les isomères α sont majoritaires et n'ont pas de fonction alcool primaire. Ils se métabolisent par les voies oxydatives des cytochromes P450 à l'origine de la formation de CO₂, ce qui en fait des produits de choix pour éviter les risques de toxicité pour la reproduction. Cependant, il existe aussi les isomères β minoritaires n'ayant pas eux-mêmes d'intérêt commercial mais qui se retrouvent comme impuretés de synthèse. Ils ont une fonction alcool primaire et peuvent se métaboliser en acides alkoxypropioniques potentiellement toxiques, comme par exemple l'acide méthoxypropionique (MPA). Ces isomères β entraînent ainsi des effets toxiques semblables aux dérivés éthyléniques [1, 2].

De nombreuses méthodes de dosages des acides alkoxyacétiques et alkoxypropioniques dans les urines ont été publiées [4-8]. Elles permettent le suivi biologique de l'exposition aux éthers de glycol. Dans ces études, la chromatographie en phase gazeuse couplée à une détection en mode ionisation de flamme (GC-FID) ou en capture d'électrons (GC-EC) est généralement utilisée. En 1989, Groeseneken et coll. décrivent une méthode de dosage en GC-EC pour le dosage des principaux acides alkoxyacétiques. Cette étude montre chez des volontaires sains, que le dosage de ces composés acides dans les urines est parfaitement corrélé à l'exposition des sujets par la mesure des éthers de glycol dans l'air atmosphérique [5]. Plus récemment, d'autres études décrivent le dosage de certains acides alkoxyacétiques en chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) [9-11]. Sakai et coll. en 1994, décrivent le dosage du 2-BAA en GC-MS après hydrolyse [9]. Shih et coll. en 1999 publient une méthode simplifiée sans dérivation en GC-MS pour le dosage des métabolites MAA, EAA et 2-BAA dans les urines [10]. Dans cette étude les effets de la matrice urinaire non négligeables pour le MAA et l'EAA sont significatifs pour le 2-BAA [10].

Nous présentons une nouvelle méthode en GC-MS pour le dosage des métabolites urinaires des principaux éthers de glycols utilisés en milieu industriel. Cette méthode permet une surveillance biologique dans le cadre d'expositions professionnelles aux éthers de glycols par le dosage simultané de huit métabolites urinaires : les acides MAA, EAA, 2-BAA, propoxyacétique (PrAA), phénoxyacétique (PhAA), méthoxypropionique (MPA), méthoxy-éthoxyacétique (MEAA) et éthoxy-éthoxyacétique (EEAA) (tableau I).

2 Matériels et méthodes

2.1 Réactifs

Tous les réactifs utilisés sont de qualité analytique. MAA, EAA, PhAA ont été obtenus chez Sigma Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France), 2-BAA chez Acros Organics (Noisy-le-Grand, France) et MEAA chez Fluka (Saint-Quentin-Fallavier, France). PrAA et l'acide 2-pentoxyacétique utilisé comme étalon interne ont été synthétisés par le Laboratoire de Chimie Thérapeutique de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de Lille et EEAA nous a été gracieusement fourni par le Dr Juha Pulkkinen (Université de Kuopio, Finlande).

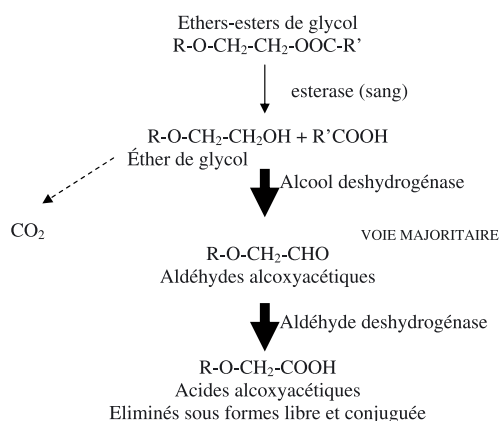
Le sulfate de tetrabutylammonium hydrogéné (TBAHS) a été obtenu chez Sigma Aldrich, le bromure de

Tableau I. Éthers de glycol et principaux métabolites acides formés et dosés en GC-MS dans les urines [2].

Éthers de glycol	Métabolites acides	Abréviations des métabolites acides
EGME*, EGDME*, DEGME*, DEGDME*, TEGME, TEGDME*	A. méthoxyacétique	MAA
DEGME, TEGME	A. méthoxyéthoxyacétique	MEAA
EGEE*, EGDEE*, DEGEE, DEGDEE, TEGEE	A. éthoxyacétique	EAA
DEGEE, TEGEE	A. éthoxyéthoxyacétique	EEAA
EGBE, DEGBE, TEGBE	A. butoxyacétique	BAA
EGnPE	A. propoxyacétique	PrAA
EGPhE	A. phénoxyacétique	PhAA
1PG2ME*	A. méthoxypropionique	2-MPA

* éthers de glycol classés toxiques pour la reproduction ou le développement embryofœtal en 2008.

SERIE ETHYLENIQUE



SERIE PROPYLENIQUE

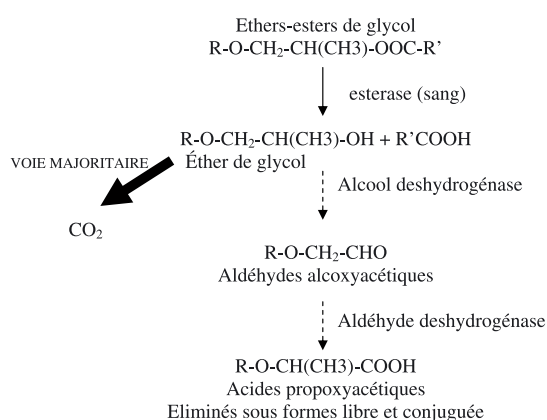


Fig. 1. Métabolisme des éthers de glycol.

pentafluorobenzyl (PFBBR) chez Fluka, le dichlorométhane chez Carlo Erba (Peypin, France) et le pentane chez Fluka.

Le laboratoire participe au programme de contrôles externes de qualité *German External Quality Assessment Scheme* (G-EQUAS, Nuremberg, Germany) pour les métabolites EAA et 2-BAA.

2.2 Instrumentation et conditions d'analyse

La séparation chromatographique est réalisée sur un chromatographe en phase gaz de type GC 8000 (ThermoFinnigan, Courtaboeuf, France) couplé à un spectromètre de masse de type Automass 30+ (ThermoFinnigan). Un passeur automatique de type AS 800 (CE Instruments, Wigan, UK) permet l'injection des échantillons. L'ensemble des données est acquis sur un logiciel de type Xcalibur™ (ThermoFinnigan).

L'injection des échantillons est réalisée en mode sans division (*splitless*) à une température de 200 °C. La colonne est une BPX-5MS (25 m × 0,25 mm, 0,25 μm) (SGE, France). Le gaz vecteur est de l'hélium utilisé à un débit de 1 mL/min. La température initiale du four est de 70 °C maintenue pendant 2 min puis augmente de 2 °C par minute jusqu'à 120 °C. Après 0,5 min à 120 °C, la température augmente jusqu'à 320 °C à la vitesse de 25 °C par minute et est maintenue pendant 5 min. La température de la ligne de transfert est fixée à 270 °C.

La détection se fait en mode d'ionisation chimique négative avec du méthane comme gaz réactant. La source est à une température de 200 °C. L'acquisition est réalisée en mode spectre complet (*full scan*) de 85 à 152 m/z.

2.3 Préparation des solutions étalons

À partir des solutions aqueuses à 1 g/L des huit acides, un mélange à 2 mg/L de chacun d'entre eux est préparé. Il se conserve un mois à l'abri de la lumière à +4 °C.

L'ensemble des échantillons utilisés pour la validation de la méthode (gamme de calibration y compris) sont des prélèvements urinaires dans lesquels des ajouts de mélanges de métabolites ont été réalisés.

2.4 Préparation de l'échantillon

À 100 μL d'urine sont ajoutés de l'acide 2-pentoxycétique (étalon interne, 0,1 μg) et 1 mL de TBHAS (0,1 M) pour un ajustement du pH à la valeur de 6,0. Après incubation pendant 16 h au bain marie à 37 °C en présence de PFBBR (5 μL) dans du dichlorométhane (3 mL), la phase organique est isolée. Après évaporation sous azote, l'extrait est repris par du pentane (50 μL).

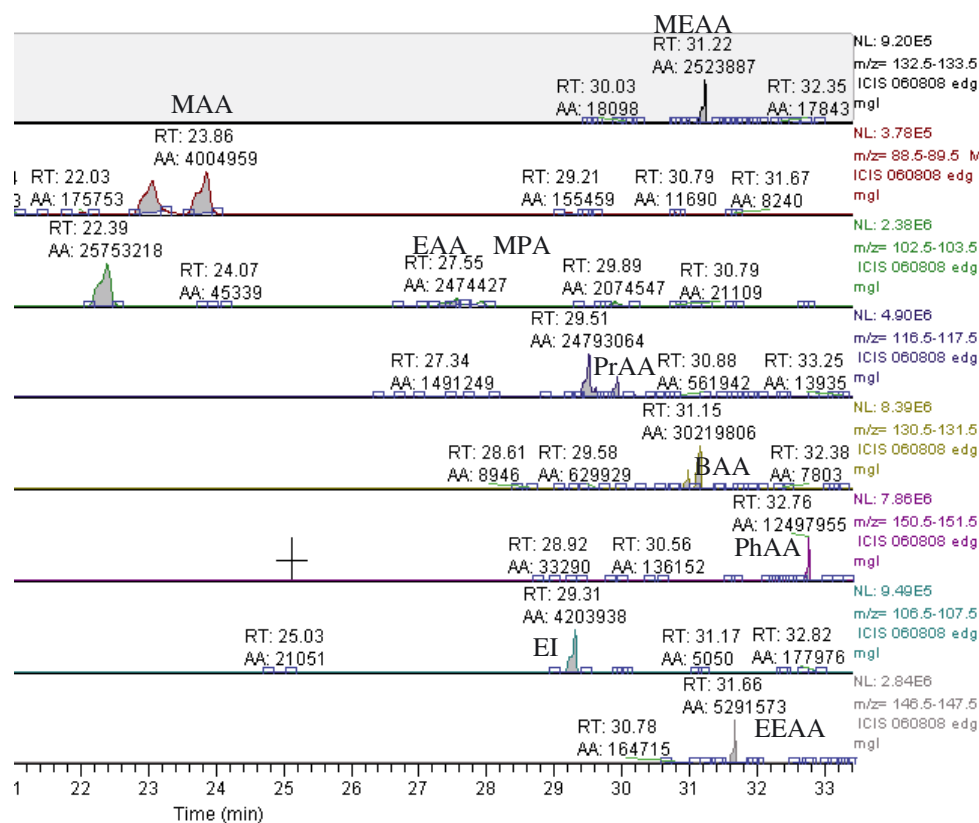


Fig. 2. Tracé chromatographique d'un calibrateur préparé à la concentration finale de 1 mg/L pour chacun des métabolites.

Tableau II. Temps de rétention et ions de quantification utilisés en GC-MS pour les huit métabolites acides et l'étalon interne (EI).

Métabolites	Temps de rétention (min)	m/z
MAA	23,8	89
EAA	27,5	103
2-BAA	31,0	131
PrAA	29,9	117
PhAA	32,7	151
MPA	27,9	103
MEAA	31,2	133
EEAA	31,6	147
EI	29,3	145

2.5 Quantification

Pour chaque métabolite, un ion de quantification est sélectionné (tableau II).

2.6 Application à une étude pilote en population générale

Une étude pilote a été menée à l'unité INSERM U625 (Rennes, France) pour estimer les expositions professionnelles ou environnementales chez des femmes enceintes à différents solvants dont les éthers de glycols. Cette étude est préliminaire à l'étude environnementale nommée PELAGIE (Perturbateurs Endocriniens, Étude Longitudinale sur les Anomalies de la

Grossesse et de l'Infertilité) et a été réalisée à partir d'échantillons de PELAGIE [12]. Un échantillon urinaire est recueilli chez 200 femmes enceintes provenant de deux régions de Bretagne. Six métabolites ont été mesurées dans ces échantillons : MAA, EAA, 2-BAA, PrAA, PhAA et MPA.

L'ensemble des résultats des concentrations des métabolites acides dans les urines sont exprimés en mg/g de créatinine.

3 Résultats

Dans les conditions opératoires décrites, la séparation chromatographique des huit métabolites et de l'étalon interne est réalisée en moins de 33 min (figure 2). Les temps de rétention sont résumés dans le tableau II.

Une relation linéaire est décrite de 0,05 à 2 mg/L pour MAA, MEAA, EAA, EEAA, PrAA et MPA et de 0,01 à 2 mg/L pour 2-BAA et PhAA avec des coefficients de régression supérieurs à 0,99 pour chacun des métabolites. Les limites de détection sont de 0,01 mg/L pour les six premiers métabolites et de 0,001 mg/L pour 2-BAA et PhAA. Elles ont été mesurées pour chacun des acides à partir de la valeur moyenne du bruit de fond mesurée sur 20 échantillons à laquelle on ajoute trois écarts-type. Les répétabilités et les fidélités intermédiaires déterminées pour les huit métabolites pour une concentration de 0,5 mg/L sont inférieures à 10 %.

L'exactitude mesurée à partir des derniers contrôles externes de qualité G-EQUAS (n = 4) est située entre 92,7 % et 97,4 % pour l'EAA et 104,2 % et 113,3 % pour le 2-BAA.

Tableau III. Résultat de l'étude pilote de l'exposition des femmes enceintes aux éthers de glycol (Étude PELAGIE, INSERM U625) [12].

Métabolites	Détection (%)	Moyenne géométrique (mg/g créatinine)	Maximum (mg/g créatinine)
MAA	35,00	0,10	0,38
EAA	1,50	0,08	0,31
BAA	18,50	0,08	1,03
PrAA	1,50	0,03	0,11
PhAA	97,00	0,58	73,91
MPA	22,50	0,43	8,75

Cette nouvelle méthode de dosage a été utilisée dans l'étude pilote menée à l'Unité INSERM 625. Des résultats préliminaires sont présentés dans le tableau III [12]. Pour les métabolites EAA et PrAA, moins de 2 % des urines de femmes sont dépistées positives c'est-à-dire supérieures à une concentration de 0,05 mg/L. Par contre on observe des prévalences élevées respectivement de 35 % et 19 % pour des métabolites décrits comme reprotoxiques ou hématotoxiques, MAA et 2-BAA respectivement. Pour ces deux derniers, les concentrations moyennes restent faibles (tableau III). Pour le MPA, seul métabolite de la série des éthers de glycol de la série des propyléniques (1-méthoxy 2-propanol), 23 % des urines sont dépistées positives avec une moyenne géométrique relativement élevée. Enfin, PhAA est présent dans une très grande majorité des cas et on a pu observer un échantillon avec une concentration élevée de 73,9 mg/g de créatinine.

4 Discussion

Cette étude présente une nouvelle méthode de dosage en GC-MS des principaux marqueurs urinaires des éthers de glycol. La méthode décrite a été optimisée pour huit métabolites sachant que d'autres marqueurs comme l'acide 2-éthoxypropionique (2-EPA) ou l'acide butoxyéthoxyacétique (BEAA), n'ont pas été suivis dans notre laboratoire en raison de la non disponibilité des solutions étalons dans le commerce.

À notre connaissance, cette méthode est la première décrite dans la littérature permettant le dosage simultané de huit métabolites dans les urines. D'autre part, elle permet le suivi de deux nouveaux marqueurs, le MEAA et l'EEAA, métabolites acides de nouveaux éthers de glycol de type 2-(2-alkoxyéthoxy)-éthanol dont très peu de méthodes de dosage pour une surveillance biologique ont été décrits dans la littérature [11, 13].

La GC-MS en mode d'ionisation chimique négative permet de mesurer des concentrations faibles dans des échantillons urinaires en particulier pour certains métabolites acides comme le 2-BAA. Nous proposons une préparation d'échantillon assez simple même si elle nécessite un temps d'hydrolyse plus long que celui de méthodes publiées sans hydrolyse [10]. Dans notre étude, le dosage des métabolites acides est possible après utilisation d'un agent estérifiant, le bromure de pentafluorobenzyl. Dans la littérature, différentes méthodes sont utilisées et en particulier une étape d'estérification par de l'éthanol est décrite par Laitinen et coll en

1997 [8] ou plus récemment par B'Hymer et coll. en 2003 pour le MEAA [11]. Notre méthode est sensible avec des limites de détection plus faibles que celles décrites dans la littérature par Shih et coll. (Ldd de 0,055 mg/L pour le MAA) [10] ou par B'Hymer et coll. (Ldd entre 0,02 et 0,08 mg/L pour le MEAA) [11]. La dérivation utilisée dans notre méthode permet d'améliorer la sensibilité et la séparation des acides qui se retrouvent sous une forme moins polaire. La quantification en GC-MS est réalisée par la mesure de l'ion le plus abondant qui correspond dans notre méthode à l'ion M-1 (tableau II). Pour chaque métabolite, on constate ainsi la perte de l'agent dérivant sur le seul ion retrouvé lors de la fragmentation. Le mode d'ionisation chimique négative choisi explique certainement cette fragmentation douce.

Cette méthode de dosage a été optimisée dans notre laboratoire pour une surveillance de l'exposition professionnelle aux éthers de glycol [14]. En effet, les concentrations des métabolites acides dans les urines sont bien corrélées au risque pour la santé chez l'homme [1, 2]. Ils deviennent ainsi des paramètres biologiques spécifiques et intéressants dans le cadre d'une surveillance. Pour le MAA et le 2-BAA, le NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health) propose des valeurs d'exposition professionnelle de 30 et 60 mg/g de créatinine en début de poste et fin de semaine de travail lors d'une exposition à 5 ppm de méthoxyéthanol ou de 2-butoxyéthanol respectivement [15, 16]. Le tableau IV résume les recommandations internationales actuelles disponibles pour ces paramètres de biosurveillance. Il existe très peu de valeurs de référence en milieu professionnel ou en population générale et celles qui sont aujourd'hui en application ne semblent pas toujours adaptées. Les valeurs limites d'expositions professionnelles restent très élevées malgré une classification récente comme reprotoxiques de certains d'entre eux (tableau I).

Un exemple de surveillance en population générale est présenté et montre que notre méthode de dosage peut également être utilisée dans le cadre d'études environnementales. La méthode est suffisamment sensible pour l'ensemble des marqueurs et dans la grande majorité des cas une linéarité maximum décrite jusqu'à 2 mg/L est adaptée à une estimation correcte des concentrations urinaires de ces métabolites.

On notera cependant, la présence quasi systématique de PhAA dans les échantillons urinaires en exposition professionnelle et dans l'exemple de l'étude pilote présentée dans cet article. La présence de PhAA, signe d'une exposition fréquente au phénoxyéthanol semble compatible avec l'utilisation très importante du phénoxyéthanol dans les produits cosmétiques largement consommés actuellement par l'ensemble de la population.

5 Conclusion

Notre méthode de dosage en GC-MS des métabolites acides des éthers de glycol est spécifique et sensible et permet une surveillance de personnes exposées à de faibles niveaux en milieu du travail ou une surveillance en population générale.

Même si l'on observe une diminution du suivi de l'exposition professionnelle aux éthers de glycol en France, la surveillance biologique reste un outil indispensable à l'évaluation des risques.

Tableau IV. Valeurs recommandées des marqueurs urinaires lors de l'exposition aux éthers de glycol [15, 16].

	Valeurs en population générale	Indices biologiques d'exposition
MAA PhAA PrAA EEAA	–	–
EAA	–	Biological Exposition Index of American conference of Governmental Industrial Hygienists : BEI de l'ACGIH = 100 mg/g créat. Biologischer Arbeitsstoff Toleranzwert, valeur biologique de référence allemande : BAT = 50 mg/L (fin de poste, fin de semaine) Valeur guide en France = 100 mg/g créat. (fin de poste, fin de semaine)
EPA	–	–
MEAA	–	Valeur de référence en Finlande = 50 mmol/mol créat. (fin de poste, fin de semaine)
EEAA	–	Valeur de référence en Finlande = 120 mmol/mol créat. (fin de poste, fin de semaine)
BAA	< 0,5 mg/L [15]	

Remerciements. Les auteurs remercient JérémY Thomas et Virginie Clin du Laboratoire de Toxicologie et Génopathies du CHRU de Lille pour leur aide technique précieuse dans cette étude.

Références

1. Éthers de glycol. Quels risques pour la santé? Expertise collective INSERM 1999.
2. Éthers de glycol. Nouvelles données toxicologiques. Expertise collective INSERM 2006.
3. Loh CH, Shih TS, Liou SH, Lin YC, Hsieh AT, Chen CY, Liao GD. Haematological effects among silk screening workers exposed to 2-ethoxy ethyl acetate. *Occup Environ Med.* 2003; 60: E7.
4. Groeseneken D, Van Vlem E, Veulemans H, Masschelein R. Gas chromatographic determination of methoxyacetic and ethoxyacetic acid in urine. *Br J Ind Med.* 1986; 43: 62-67.
5. Groeseneken D, Veulemans H, Masschelein R, Van Vlem E. An improved method for the determination in urine of alkoxyacetic acids. *Int Arch Occup Environ Health.* 1989; 61: 249-254.
6. Johanson G. Analysis of ethylene glycol ether metabolites in urine by extractive alkylation and electron-capture gas chromatography. *Arch Toxicol.* 1989; 63: 107-111.
7. Sakai T, Araki T, Masuyama Y. Determination of urinary alkoxyacetic acids by a rapid and simple method for biological monitoring of workers exposed to glycol ethers and their acetates. *Int Arch Occup Environ Health.* 1993; 64: 495-498.
8. Laitinen J. Biomonitoring of technical grade 1-alkoxy-2-propanol acetates by analysing urinary 2-alkoxypropionic acids. *Sci Total Environ.* 1997; 199: 31-39.
9. Sakai T, Araki T, Morita Y, Masuyama Y. Gas chromatographic determination of butoxyacetic acid after hydrolysis of conjugated metabolites in urine from workers exposed to 2-butoxyethanol. *Int Arch Occup Environ Health.* 1994; 66: 249-254.
10. Shih TS, Chou JS, Chen CY, Smith TJ. Improved method to measure urinary alkoxyacetic acids. *Occup Environ Med.* 1999; 56: 460-467.
11. B'Hymer C, Cheever K, Butler M, Brown K. Procedure for the quantification of the biomarker (2-methoxyethoxy)acetic acid in human urine samples. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2003; 795: 145-150.
12. Garlantezec R, Monfort C, Labat L, Multigner L, Cordier S. Exposure to glycol ethers during pregnancy in the general population: a biomonitoring pilot study. *Epidemiology.* 2006; 17(6): S296.
13. Laitinen J, Pulkkinen J. Biomonitoring of 2-(2-alkoxyethoxy)ethanols by analysing urinary 2-(2-alkoxyethoxy)acetic acids. *Toxicol Lett.* 2005; 156: 117-126.
14. Ben-Brick E, Jerome L, Arnaud J, Yous S, Labat L, Haguenoer JM, Multigner L. Exposure to glycol ethers in a population of French men evaluated by measurement of urinary alkoxy-carboxylic acids. *Int Arch Occup Environ Health.* 2004; 77: 368-372.
15. BIOTOX 2007 consulté sur le site <http://www.inrs.fr>
16. Lauwerys R, Haufroid V, Hoet P, Lison D. Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles (5^e édition). Masson, 2007.