

**MEMOIRE  
POUR LE DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES  
DE PHARMACIE**

Soutenu publiquement le 30 Septembre 2016  
**Par Mme Morgane MASSE**

Conformément aux dispositions du Décret du 10 septembre 1990  
tient lieu de  
**THESE EN VUE DU DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

---

**Optimisation d'une méthode de détection et de quantification  
des plastifiants en chromatographie liquide haute performance.  
Application du concept de la dérivée première des spectres UV.**

---

**Membres du jury :**

**Directeur du mémoire : Mme le Docteur Stéphanie GENAY**  
Pharmacien, MCF- Praticien attaché  
Faculté de Pharmacie, Université de Lille 2  
Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille

**Président : M. le Professeur Bertrand DÉCAUDIN**  
Pharmacien, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier  
Faculté de Pharmacie, Université de Lille 2  
Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille

**Assesseurs : M. le Professeur Jean-Marc CHILLON**  
Pharmacien, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier  
Faculté de Pharmacie, Université de Picardie Jules Verne  
Centre hospitalier Universitaire d'Amiens

**M. le Docteur Christophe BERNERON**  
Pharmacien, Praticien Hospitalier  
Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille





**MEMOIRE  
POUR LE DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES  
DE PHARMACIE**

Soutenu publiquement le 30 Septembre 2016  
**Par Mme Morgane MASSE**

Conformément aux dispositions du Décret du 10 septembre 1990  
tient lieu de  
**THESE EN VUE DU DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

---

**Optimisation d'une méthode de détection et de quantification  
des plastifiants en chromatographie liquide haute performance.  
Application du concept de la dérivée première des spectres UV.**

---

**Membres du jury :**

**Directeur du mémoire : Mme le Docteur Stéphanie GENAY**  
Pharmacien, MCF- Praticien attaché  
Faculté de Pharmacie, Université de Lille 2  
Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille

**Président : M. le Professeur Bertrand DÉCAUDIN**  
Pharmacien, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier  
Faculté de Pharmacie, Université de Lille 2  
Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille

**Assesseurs : M. le Professeur Jean-Marc CHILLON**  
Pharmacien, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier  
Faculté de Pharmacie, Université de Picardie Jules Verne  
Centre hospitalier Universitaire d'Amiens

**M. le Docteur Christophe BERNERON**  
Pharmacien, Praticien Hospitalier  
Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille





## Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille



3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE  
CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64

### Université Lille 2 – Droit et Santé

Président :  
Vice- présidents :

Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE  
Professeur Alain DUROCHER  
Professeur Régis BORDET  
Professeur Eric KERCKHOVE  
Professeur Eric BOULANGER  
Professeur Frédéric LOBEZ  
Professeur Damien CUNY  
Professeur Benoit DEPRez  
Professeur Murielle GARCIN  
Monsieur Pierre RAVAUX  
Monsieur Larbi AIT-HENNANI  
Monsieur Antoine HENRY

Directeur Général des Services :

Monsieur Pierre-Marie ROBERT

### Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Doyen :  
Vice-Doyen, 1<sup>er</sup> assesseur :  
Assesseur en charge de la pédagogie  
Assesseur en charge de la recherche  
Assesseur délégué à la scolarité  
Assesseur délégué en charge des  
Relations internationales  
Assesseur délégué en charge de la vie étudiante

Professeur Damien CUNY  
Professeur Bertrand DECAUDIN  
Dr. Annie Standaert  
Pr. Patricia Melnyk  
Dr. Christophe Bochu  
  
Pr. Philippe Chavatte  
M. Thomas Morgenroth

Chef des services administratifs :

Monsieur Cyrille PORTA

### Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
Mme	CAPRON	Monique	Immunologie
M.	DECAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DINE	Thierry	Pharmacie Clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
M.	DUTHILLEUL	Patrick	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie

M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie Clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	Chimie Organique (ICPAL)

### Liste des Professeurs des Universités

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BERTHELOT	Pascal	Chimie Thérapeutique 1
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie Clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Chimie Thérapeutique 2
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences Végétales et Fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences Végétales et Fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie Générale
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie Générale
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences Végétales et Fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
Mme	GRAS	Hélène	Chimie Thérapeutique 3
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie Thérapeutique 2
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY – MAILLOLS	Anne Catherine	Droit et économie Pharmaceutique
Mme	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHÉRAERT	Eric	Droit et économie Pharmaceutique
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire
M.	TARTAR	André	Chimie Organique
M.	VACCHER	Claude	Chimie Analytique
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie Organique
M.	MILLET	Régis	Chimie Thérapeutique (ICPAL)

### Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique

### Liste des Maîtres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	AGOURIDAS	Laurence	Chimie Thérapeutique 2
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie (90%)
M.	ANTHERIEU	Sébastien	Toxicologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie Cellulaire

Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M	BELARBI	Karim	Pharmacologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie Industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
Mme	CACHERA	Claude	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie Cellulaire (80%)
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie (80%)
Mme	CHARTON	Julie	Chimie Organique (80%)
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie (80%)
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie Cellulaire
M.	FARCE	Amaury	Chimie Thérapeutique 2
Mme	FLIPO	Marion	Chimie Organique
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
M.	GELEZ	Philippe	Biomathématiques
Mme	GENAY	Stéphanie	Pharmacologie Galénique
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
Mme	HAMOUDI	Chérifa Mounira	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	HANNOThIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie Thérapeutique 1
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie Pharmaceutique
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	NEUT	Christel	Bactériologie
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie

M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	WILLEMAGNE	Baptiste	Chimie Organique
M.	WELTI	Stéphane	Sciences Végétales et Fongiques
M.	YOUS	Saïd	Chimie Thérapeutique 1
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques
M.	FURMAN	Christophe	Pharmacobiochimie (ICPAL)
Mme	GOOSSENS	Laurence	Chimie Organique (ICPAL)
Mme	LELEU-CHAVAIN	Natascha	ICPAL

### Professeurs Agrégés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	MAYES	Martine	Anglais
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie Pharmaceutique

### Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

### Professeur Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie Pharmaceutique

### Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BERTOUX	Elisabeth	Pharmacie Clinique - Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
M.	CUCCHI	Malgorzata	Information Médicale
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	GILLOT	François	Droit et économie Pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

### AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	DEKYNDT	Bérengère	Pharmacie Galénique
M.	PEREZ	Maxime	Pharmacie Galénique

## ***Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille***

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX  
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64  
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

## REMERCIEMENTS

### **Monsieur le Professeur Bertrand Décaudin,**

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse.  
Soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.  
Je vous remercie pour tous vos conseils et votre aide pendant mon internat.  
Merci également de m'avoir permis de participer au projet ARMED.

### **Monsieur le Professeur Jean Marc Chillon,**

Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail.  
Soyez assuré de ma considération la plus grande.

### **Monsieur le Docteur Christophe Berneron,**

Vous me faites l'honneur d'accepter de juger ce travail.  
Soyez assuré de ma reconnaissance et de mes sincères remerciements.

### **Madame le Docteur Stéphanie Genay**

Je te remercie de m'avoir encadrée pour cette thèse. J'ai énormément appris (et je continue) à tes côtés et t'en suis extrêmement reconnaissante. Un immense merci pour ta gentillesse, ta disponibilité et tes conseils.

### **Monsieur le Professeur Pascal Odou,**

Je vous remercie d'avoir relu ce mémoire et de m'avoir aidée pendant les travaux de ce mémoire. Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance et de mon profond respect.

### **Madame le Docteur Christine Barthélémy,**

Je vous remercie pour m'avoir aidée durant les travaux de ce mémoire et surtout d'avoir réparé Baby Mole. Merci pour vos conseils, votre disponibilité et vos relectures.

### **Madame le Professeur Valérie Sautou et Madame le Docteur Lise Bernard**

Je vous remercie de m'avoir permis d'intégrer ce beau projet et de votre collaboration pour l'étude de « biomonitoring ».

**A mes co-internes et amis**

Julie, Maxime, Héloïse, Sarah, Fabienne, Sandrine, Terry, Maximilien, Edouard, Estelle, Gabrielle

Un grand merci pour votre soutien et votre bonne humeur.

**Au laboratoire de Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière**

Frédéric, Nicole, Nicolas Simon, Damien Lannoy, Aurélie, Pauline

**Ma famille,**

Qui m'a toujours soutenue et encouragée

Merci pour votre présence et votre affection.

**Anthony et Rafael**

Pour leur amour et leur soutien au quotidien.

Ce travail a fait l'objet :

- d'une publication acceptée avec révisions mineures à Talanta (Impact factor en 2015 : 4,035) (septembre 2016)

"How to solve the problem of co-elution between two compounds in liquid chromatography through the first UV derivative spectrum. A trial on alternative plasticizers to di(2-ethylhexyl) phthalate".

**M. Masse**, S. Genay, F. Feutry, N. Simon, C.Barthélémy, V. Sautou, B. Décaudin, P. Odou, for the ARMED study group.

- d'une communication internationale affichée

"Use of UV - spectrum derivative chromatography method to solve coelution between two plasticizers", XVIII<sup>ème</sup> congrès Euroanalysis du 6 au 10 Septembre 2015 à Bordeaux.

**M. Masse**, S. Genay, F. Feutry, N. Simon, V. Sautou, C. Barthélémy, B. Décaudin, P. Odou for the ARMED study group.

- d'une communication nationale affichée

"How to solve the co-elution between two compounds in liquid chromatography by the first derivative spectrum? An example applied to di(2-ethylhexyl) phthalate alternative plasticizers," 16<sup>ème</sup> édition de la journée André Verbert, le 5 Septembre 2016 à Lille.

**M. Masse**, S. Genay, F. Feutry, C. Barthélémy, N. Simon, V. Sautou, B. Décaudin, P. Odou for the ARMED study group.



## TABLE DES MATIERES

<b>Liste des figures</b> .....	<b>11</b>
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>11</b>
<b>Abréviations</b> .....	<b>12</b>
<b>I. Introduction</b> .....	<b>14</b>
<b>II. Généralités</b> .....	<b>16</b>
1. Utilisation du PVC et des plastifiants dans la fabrication des dispositifs médicaux .....	16
2. Utilisation du DEHP .....	17
a. Toxicité du DEHP chez l'homme .....	17
b. Réglementation concernant l'interdiction du DEHP .....	19
3. Solutions alternatives à l'utilisation du DEHP .....	21
a. Métabolisation des plastifiants alternatifs au DEHP .....	24
b. Toxicité des plastifiants alternatifs au DEHP .....	24
c. Etudes de migration des plastifiants .....	26
4. Projet ARMED .....	27
a. Méthodes de dosage des plastifiants dans les dispositifs médicaux .....	28
b. Procédures d'extraction .....	29
5. Objectifs .....	30
<b>III. Matériels et méthodes</b> .....	<b>31</b>
1. Solvants et matériels .....	31
a. Plastifiants .....	31
b. Solvants .....	31
c. Matériels .....	31
2. Préparation des solutions mères et filles .....	32
3. Méthode analytique .....	32
4. Traitement du signal .....	33
a. Contexte et problème .....	33
b. Principe .....	33
c. Choix des longueurs d'onde .....	34
4. Validation de la méthode analytique .....	35
5. Méthode d'extraction .....	36
6. Echantillons de dispositifs médicaux analysés à l'aveugle .....	37
<b>IV. Résultats</b> .....	<b>39</b>
1. Développement de la méthode de dosage .....	39
2. Validation de la méthode de dosage .....	43
a. Validation de la méthode .....	43
b. Limites de détection et quantification .....	44
3. Echantillons de dispositifs médicaux analysés à l'aveugle .....	44
<b>V. Discussion</b> .....	<b>47</b>
1. Méthode analytique .....	47
2. Comparaison des résultats obtenus dans l'analyse à l'aveugle .....	49
3. Comparaison des techniques de détection par chromatographie liquide .....	51
<b>VI. Conclusion</b> .....	<b>53</b>
<b>VII. Bibliographie</b> .....	<b>54</b>
<b>VIII. ANNEXE : Les différents axes du projet ARMED</b> .....	<b>62</b>

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Formule chimique du polychlorure de vinyle. ....	16
<b>Figure 2</b> : Structure des phtalates. ....	17
<b>Figure 3</b> : Pictogramme à indiquer sur l'étiquetage et sur l'emballage en cas de présence de phtalates dans le dispositif médical. ....	20
<b>Figure 4</b> : Chromatogrammes illustrant les problèmes de co-élutions rencontrées par Radaniel <i>et al.</i> ....	30
<b>Figure 5</b> : Principe de l'utilisation de la dérivée première des spectres UV.....	34
<b>Figure 6</b> : Schématisation de la méthode d'extraction des plastifiants.....	36
<b>Figure 7</b> : Chromatogrammes illustrant la co-élution DEHP/DEHA (a) et la co-élution DEHT/DINP (b).....	39
<b>Figure 8</b> : Spectres d'absorption dans l'UV du DEHP (a), du DEHA (b), du DEHT (c) et du DINP (d). ....	40
<b>Figure 9</b> : Spectres des dérivées premières du DEHP et du DEHA. ....	41
<b>Figure 10</b> : Spectres des dérivées premières du DEHT et du DINP. ....	41
<b>Figure 11</b> : Chromatogrammes représentant les coélutions et les composés seuls à la longueur d'onde déterminée par l'étude de la dérivée première. ....	42
<b>Figure 12</b> : Spectres d'absorption dans l'ultra-violet du BBP (a), de l'ATBC (b), du DINCH (c) et du TOTM (d). ....	42
<b>Figure 13</b> : Quantification des plastifiants retrouvés dans les dispositifs médicaux testés.....	45

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1</b> : Catégories de substances CMR et définition de ces catégories au sens de la réglementation européenne en vigueur selon le règlement (CE) n° 1272/2008. ....	20
<b>Tableau 2</b> : Structures chimiques des plastifiants et domaines d'utilisation selon les dispositifs médicaux. ....	23
<b>Tableau 3</b> : Liste des métabolites primaires et secondaires pour chaque plastifiant. ....	24
<b>Tableau 4</b> : Description de l'évolution du gradient de concentration utilisé dans la méthode de dosage des plastifiants.....	33
<b>Tableau 5</b> : Concentrations des standards de validation et des contrôles de qualité des plastifiants utilisés lors de la validation.....	35
<b>Tableau 6</b> : Concentrations de la solution mère de l'étalon interne. ....	36
<b>Tableau 7</b> : Liste des dispositifs médicaux analysés. ....	38
<b>Tableau 8</b> : Temps de rétention des plastifiants. ....	39
<b>Tableau 9</b> : Longueurs d'onde (nm) d'analyse pour chaque plastifiant étudié. ....	43
<b>Tableau 10</b> : Paramètres de validation des gammes de plastifiants et les limites de détection et quantification. ....	43
<b>Tableau 11</b> : Biais relatifs pour chaque plastifiant étudié. ....	44
<b>Tableau 12</b> : Quantification des plastifiants retrouvés dans les dispositifs médicaux testés.....	45
<b>Tableau 13</b> : Quantification des plastifiants retrouvés dans les dispositifs médicaux testés par les autres techniques du projet ARMED .....	46

## ABREVIATIONS

ACN : Acétonitrile

AFSSAPS : Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé

ANOVA : *Analysis of variance* (= analyse de la variance)

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

ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

ARMED : *Assessment and risk management of medical devices in plastified PVC*

ATBC : Acetyl tributyl citrate

BBP : Benzyl butyl phtalate

BR : Biais relatif

CCV : Chirurgie cardiovasculaire

CEC : Circulation extra corporelle

CG-FID : Chromatographie gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme

CG-SM : Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

CHRU : Centre hospitalier régional universitaire

CHU : Centre hospitalier universitaire

CLHP : Chromatographie liquide haute performance

CMR : Cancérogène mutagène ou toxique pour la reproduction

CQ : Contrôle de qualité

DAD : Détecteur à barrettes de diodes

DEDL : Détecteur évaporatif à diffusion de lumière

DEHA : Di-2-ethylhexyl adipate

DEHP : Di-2-ethylhexyl phtalate

DEHT : Di-2-ethylhexyl téréphtalate

DEHTM : Di-2-ethylhexyl trimellitate

DiBP : Di-iso-butyl phtalate

DINCH : Di-isononyl-1,2-cyclohexane-dicarboxylate

DINP : Diisononyl phtalate

DM : Dispositif médical

DMs : Dispositifs médicaux

DnBP : Di-n-butyl phtalate

ECMO : *Extracorporeal membrane oxygenation* (= extracorporelle membrane oxygénation)

EVA : Ethylène-acétate de vinyle

FT-IR : *Fourier Transform InfraRed spectroscopy* (= spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier)

LD : Limite de détection

LQ : Limite de quantification

MBP : Mono-n-butyl-phtalate

MEHP : Mono-2-ethylhexyl phthalate

MEHTM : Mono-2-ethylhexyl trimellitate

PE : Polyéthylène  
PUI : Pharmacie à usage intérieur  
PUR : Polyuréthane  
PVC : Polychlorure de vinyle  
REACH : *Registration, evaluation, authorization and restriction of chemicals* (= enregistrement, évaluation, autorisation et restriction des substances chimiques)  
RMN : Résonance magnétique nucléaire  
SCENIHR : Scientific Committee on Emerging and Newly-Identified Health Risks (= comité scientifique des risques sanitaires émergents et nouveaux)  
SFC : *Supercritical fluid chromatography* (= chromatographie en phase supercritique)  
SFSTP : Société française des sciences et techniques pharmaceutiques  
SV : Standard de validation  
THF : Tétrahydrofurane  
TOTM : Trioctyl trimellitate  
UFPLC : *Ultra fast pressure liquid chromatography* (= chromatographie liquide ultra-rapide)  
UV : Ultra-violet

## I. INTRODUCTION

Les dispositifs médicaux (DMs) de perfusion commercialisés sont dans la grande majorité fabriqués avec du polychlorure de vinyle (PVC). Plus précisément, environ 40% des DMs (1) sont élaborés avec ce matériau. Le PVC, fortement rigide à température ambiante, est assoupli grâce à l'adjonction de plastifiants qui ne sont pas liés de manière covalente avec le PVC. L'un des plastifiants les plus utilisés est le di-2-ethylhexyl phtalate (DEHP). Mais celui-ci, identifié comme reprotoxique pour l'homme (2), a vu son utilisation réglementée. En effet, les plastifiants contenus dans les DMs d'administration des médicaments peuvent migrer au contact de solutions médicamenteuses, particulièrement lipophiles, et ainsi être perfusés aux patients. Le rapport du *Scientific Committee on Emerging and Newly-Identified Health Risks* (SCENIHR) (2,3) a mis en exergue des situations cliniques dites à risque dans lesquelles le patient pouvait être le plus exposé aux plastifiants. À l'heure actuelle, d'autres plastifiants, dits plastifiants alternatifs au DEHP, sont utilisés en remplacement de ce dernier. Toutefois, les études de migration et de toxicité chez l'homme ne permettent pas d'être certains de leur innocuité pour l'utilisation chez l'homme. D'autant plus que les études de toxicité chez les animaux révèlent une toxicité de ces plastifiants.

C'est dans ce contexte qu'un projet national, *Assessment and Risk Management of MEdical Devices in plastified PVC* (ARMED), porté par le centre hospitalier universitaire (CHU) de Clermont-Ferrand, a été financé par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM). L'objectif de ce projet est d'évaluer la toxicité et le potentiel de migration des plastifiants alternatifs au DEHP chez des patients présentant des situations cliniques à risque. Dans le cadre de ce projet, auquel le laboratoire de Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière de l'équipe d'accueil 7365 et le centre hospitalier régional universitaire (CHRU) de Lille ont participé, des méthodes de dosage des plastifiants ont été mises au point. Plusieurs techniques sont développées : la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR), la chromatographie gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CG-FID), la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM), la chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur évaporatif à diffusion de lumière (CLHP-DEDL), la chromatographie liquide haute performance à détection ultra-violette (CLHP-UV), la résonance magnétique nucléaire

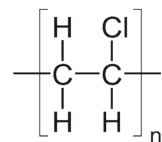
(RMN), la chromatographie en phase supercritique couplée à un détecteur évaporatif à diffusion de lumière (SFC–DEDL).

L'objectif de ce travail est de mettre au point une technique analytique de dosage et de quantification de l'ensemble de ces plastifiants alternatifs au DEHP, rapide et peu coûteuse, nécessitant un matériel disponible dans de nombreux laboratoires de contrôle d'une pharmacie à usage intérieur (PUI).

## II. GENERALITES

### 1. Utilisation du PVC et des plastifiants dans la fabrication des dispositifs médicaux

Actuellement, le PVC (figure 1) demeure le matériau le plus utilisé dans la fabrication des DMs de perfusion. On le retrouve, par exemple, dans les tubulures de perfusion, les prolongateurs, les sondes d'intubation. Une étude menée en 2004 (4) a mis en évidence que 40 dispositifs médicaux sur les 48 utilisés dans des services de pédiatrie et de néonatalogie en France étaient en PVC.



**Figure 1** : Formule chimique du polychlorure de vinyle.

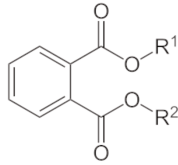
La grande utilisation de ce matériau est due à ses bonnes propriétés physicochimiques : inertie, stabilité chimique, biocompatibilité, haute transparence, durabilité, résistances chimique et mécanique, stérilisation facile et faible coût (5).

Toutefois, du fait de sa rigidité à température ambiante (la température de transition vitreuse est comprise entre 75 et 105°C (6)), des plastifiants sont ajoutés au PVC de manière à rendre les produits en PVC plus flexibles. Ces plastifiants peuvent représenter jusqu'à 50% (masse/masse) du poids du plastique en fonction des propriétés finales désirées (5).

Les plastifiants les plus utilisés sont les phtalates. Il existe plusieurs classes de plastifiants :

- Les phtalates : le benzyl butyl phtalate (BBP), le di-2-ethylhexyl phtalate (DEHP), le di-2-ethylhexyl téréphtalate (DEHT) et le diisononyl phtalate (DINP). Les phtalates (figure 2) constituent un groupe de produits chimiques dérivés (sels ou esters) de l'acide phtalique. Ils sont donc composés d'un noyau benzénique et de deux groupements carboxylates placés en ortho et dont la taille de la chaîne alkyle peut varier.
- Les adipates : le di-2-ethylhexyl adipate (DEHA)

- Les citrates : l'acetyl tributyl citrate (ATBC)
- Les cyclohexanes : le di-isononyl-1,2-cyclohexane-dicarboxylate (DINCH)
- Les trimellitates : le trioctyl trimellitate (TOTM).



**Figure 2** : Structure des phtalates.

## 2. Utilisation du DEHP

Historiquement, le DEHP était le plastifiant le plus utilisé. En effet, il est le seul plastifiant qui était inscrit à la Pharmacopée Européenne, édition 6.0 (7,8). Hormis ses intéressantes propriétés physico-chimiques, le DEHP permet de conserver l'intégrité de la membrane cellulaire entraînant une meilleure conservation de la morphologie cellulaire et une baisse de l'hémolyse (9,10). C'est pourquoi il est particulièrement utilisé pour les DMs de stockage de produits sanguins.

### a. Toxicité du DEHP chez l'homme

Les plastifiants n'étant pas fortement liés au PVC (11–13), ils sont susceptibles de migrer du DM vers les liquides en contact avec ces derniers (mélanges nutritifs, solutions médicamenteuses, sang) et ainsi être administrés au patient. Ce phénomène de désorption, c'est-à-dire de migration du composé contenu dans le PVC hors du DM, est d'autant plus grave que ce DEHP a été classé Cancérogène Mutagène ou toxique pour la Reproduction (CMR) de catégorie 1B selon la directive 67/548/CEE (14) et classé comme un perturbateur endocrinien. Cette directive est remplacée depuis le 20 janvier 2009 par le règlement européen (CE) n° 1272/2008 (15). Il a, en effet, été montré que le DEHP pouvait entraîner des troubles sur la fertilité et la reproduction (16,17). Le DEHP est le plastifiant dont la toxicité a été la plus étudiée. Plusieurs études dans la littérature ont montré cette toxicité sur la reproduction.

Messerlian *et al.* (18) ont trouvé une corrélation négative entre les concentrations des



métabolites urinaires du DEHP et le taux de follicules antraux (utilisés pour évaluer la fertilité individuelle), chez 215 femmes infertiles.

Kim *et al.* (19), ont montré que les concentrations des métabolites urinaires du DEHP étaient plus hautes chez les femmes souffrant d'endométriose que chez des femmes ne souffrant pas de la pathologie. Les auteurs ont conclu que l'exposition au DEHP pouvait conduire à une augmentation de l'envahissement et des activités prolifératives des cellules endométriales entraînant une endométriose.

Dans les années 1980, le rôle potentiel des phtalates comme proliférateurs des peroxyosomes hépatiques a suscité un vif intérêt. Le DEHP est associé à la production de tumeurs hépatiques chez le rat et la souris. Son métabolite principal, le mono 2-ethylhexyl phthalate (MEHP) a également été considéré comme un proliférateur de peroxyosomes (20). Le DEHP et le MEHP ont une action sur l'appareil reproducteur femelle de différentes espèces (rat, souris, lapin), qui peut se manifester par une mort foetale, une diminution de la taille et du poids du foetus, ou encore entraîner la stérilité des femelles (20). Des cultures de testicules foetaux humains avec du MEHP ont permis de montrer que le MEHP réduisait le nombre de cellules germinales en augmentant leur apoptose (21).

De plus, l'exposition à certains phtalates (DEHP, DINP) est corrélée à un retard de l'apparition des poils pubiens chez les filles (22). La distance anogénitale a été choisie chez l'homme comme un index de masculinisation et de l'activité androgénique du testicule. Une corrélation inverse a été trouvée entre la distance anogénitale mesurée chez les garçons âgés de 2 – 36 mois et les concentrations urinaires maternelles de mono-n-butyl phtalate (MBP), de MEHP et d'autres métabolites monoesters de phtalates mesurées à la fin de la grossesse (23).

Le dosage des phtalates dans le lait maternel a été corrélé aux niveaux d'hormones reproductives chez les garçons âgés de trois mois. L'étude a permis de conclure que le développement et les fonctions des cellules de Leydig étaient vulnérables à l'exposition des phtalates et que la virilisation des garçons exposés prénatalement aux phtalates était incomplète. D'autres études ont montré un lien entre l'exposition prénatale aux phtalates et des malformations de l'appareil reproducteur (23,24).

Une étude de 2005 (25), réalisée auprès de 54 nouveau-nés hospitalisés en soins intensifs, avait pour objectif de mesurer la concentration urinaire du MEHP chez ces patients au cours de leur hospitalisation. Les sujets ont été répartis en trois groupes selon leur exposition au DEHP (faible, moyenne et haute) ainsi qu'en fonction des DMs utilisés. Les résultats ont montré que la concentration urinaire de MEHP était corrélée à la concentration en DEHP dans les DMs à l'origine de l'exposition des patients. De plus, la concentration urinaire de MEHP retrouvée dans le groupe le plus exposé au DEHP était 5,1 fois supérieure au groupe le moins exposé au DEHP ( $p=0,03$ ).

Les nouveau-nés sont sujets à une exposition différente aux phtalates par rapport aux adultes. En effet, une équipe allemande (26) a dosé des phtalates (DEHP, DINP) dans les urines de nouveau-nés après quelques jours de vie (2 à 5 jours). Les concentrations de métabolites de phtalates à longues chaînes (DINP, DEHP) retrouvées sont six fois supérieures à celles retrouvées dans la population générale, alors que les métabolites des phtalates à courtes chaînes (di-n-butyl phtalate (DnBP), di-iso-butyl phtalate (DiBP)) étaient en concentration inférieure à celles généralement retrouvées dans la population générale. De plus, les urines du premier jour de vie des nouveau-nés ont été dosées et les concentrations de phtalates retrouvées étaient similaires à celles obtenues chez les femmes enceintes, ce qui laisse supposer que les phtalates pourraient se transmettre par voie transplacentaire.

Ces différentes études ont permis de mettre en évidence la toxicité du DEHP, imposant aux autorités de santé de réglementer son utilisation.

#### b. Réglementation concernant l'interdiction du DEHP

La directive 2005/84/CE (27) interdit dans la fabrication des jouets et des articles de puériculture (destinés à faciliter le sommeil, la relaxation, l'hygiène ainsi que l'alimentation et la succion des enfants) la présence de plus de 0,1 % en masse de matière plastifiée des dérivés phtaliques : DEHP, BBP, DINP. En 2006, le règlement européen n°1907/2006 (28) concernant l'enregistrement, l'évaluation, l'autorisation et les restrictions des substances chimiques (« *registration, evaluation, authorization and restriction of chemicals* » REACH) oblige les industriels à indiquer la présence de phtalates si la concentration est supérieure à 0,1% (masse/masse).

En 2008, le rapport du SCENIHR (2) et plus récemment dans sa mise à jour en 2015

(3), a mis en évidence le risque lié à l'utilisation de DMs en PVC plastifié au DEHP dans certaines situations médicales telles que l'hémodialyse, la transfusion, la circulation extra-corporelle (CEC) (lors de chirurgies cardiaques), l'Extracorporelle Membrane Oxygénation (ECMO), les nutritons parentérale et entérale, ou encore la perfusion de solutions lipophiles. Ainsi, en 2009, l'agence antérieure à l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM), l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSaPS) (29) a édité des recommandations annonçant la mise en application des exigences de la directive 2007/47/CE (30). Ces recommandations sont adressées aux utilisateurs et fabricants des DMs en les invitant à trouver des substitutions à l'utilisation des phtalates. Si la substitution n'est pas possible, les fabricants doivent fournir une « justification spécifique à l'utilisation de ces DMs et indiquer les mesures de précautions appropriées ». Les exigences de la directive 2007/47/CE concernent les DMs contenant des phtalates (BBP, DEHP) classés CMR 1 ou 2 (tableau 1). Dans ce cas, la présence des phtalates doit figurer sur l'étiquetage et sur l'emballage du produit (figure 3), un avertissement de danger sur les risques résiduels doit être notifié dans la notice, et l'utilisation des phtalates doit être justifiée. Cette directive concerne les dispositifs mis sur le marché après le 21/03/10.

Catégories	Définition des catégories
1A	Substances dont le potentiel pour l'être humain est avéré
1B	Substances dont le potentiel pour l'être humain est supposé
2	Substances suspectées d'être cancérogènes, mutagènes et/ou toxiques pour la reproduction pour l'homme

**Tableau 1** : Catégories de substances CMR et définition de ces catégories au sens de la réglementation européenne en vigueur selon le règlement (CE) n° 1272/2008 (15).



**Figure 3** : Pictogramme à indiquer sur l'étiquetage et sur l'emballage en cas de présence de phtalates dans le dispositif médical.

L'article I. 5214-1 de la loi n°2012-1442 (31) a pour objectif d'interdire le DEHP dans les DMs utilisés dans les services de pédiatrie, de néonatalogie et de maternité. Toutefois, au vu de la difficulté de substitution dans certaines situations comme la fabrication des canules d'ECMO, des sets d'hémaphérèse, de sondes, tubes et raccords des circuits respiratoires, un amendement a été prononcé pour modifier l'article III (32) mais précise que les établissements de soins doivent privilégier les DMs contenant la plus faible valeur de DEHP (33).

Le DEHP est donc encore présent dans les services hospitaliers. En effet, Fisher Fumeaux *et al.* (34) ont retrouvé du DEHP dans 6% des DMs utilisés dans leur service et dans près de 75% des DMs destinés à l'assistance respiratoire. Genay *et al.* (35) ont montré des traces de DEHP dans les DMs étiquetés « sans DEHP ».

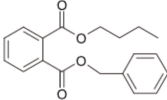
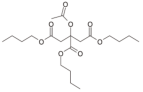
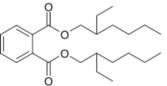
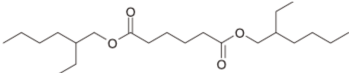
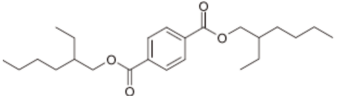
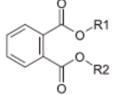
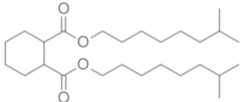
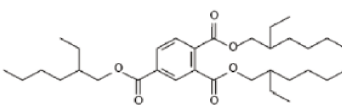
En Mai 2016, l'ANSM (36) a réalisé un contrôle de l'état du marché français des DMs pour vérifier l'absence de phtalates classés CMR 1A ou 1B. Pour cela, les DMs en PVC annoncés sans DEHP ont été choisis en privilégiant les DMs de l'hémodialyse, de la nutrition entérale et de la perfusion. Ainsi, 31 DMs ont été analysés par CG-SM grâce à une méthode analytique précédemment publiée (37). 70% des DM testés contenaient des traces de DEHP, mais pour la grande majorité d'entre eux, à des taux inférieurs à 0,1% (m/m). D'autre part, l'ANSM a mis en évidence le manque d'informations concernant l'étiquetage de ces DMs contenant les phtalates.

### 3. Solutions alternatives à l'utilisation du DEHP

C'est dans ce contexte que les fabricants de DMs ont dû s'adapter et trouver des solutions alternatives. L'une d'elle serait de délaisser le PVC au profit d'autres matériaux comme le polyéthylène (PE), le polyuréthane (PUR), le silicone, les matériaux co-extrudés (PE/PVC) ou multicouches (PE/ éthylène-acétate de vinyle (EVA)/ PVC). Toutefois, des études (38,39) ont montré que l'utilisation de matériaux co-extrudés ou en multicouches ne prévenaient pas la migration de DEHP lors de perfusions de solutions contenant du polysorbate 80. Le choix d'autres matériaux n'est pas toujours possible, en particulier en termes de coût et d'isotechnicité.

La seconde alternative serait de conserver le PVC et d'utiliser d'autres plastifiants comme ceux définis dans le rapport SCENIHR (2) : l'ATBC, le DEHT, le DEHA, le DINP, le DINCH et le TOTM. C'est pourquoi les plastifiants alternatifs sont de plus en

plus utilisés dans la fabrication des DMs. Les structures chimiques des plastifiants ainsi que leur domaine d'utilisation en clinique sont représentés dans le tableau 2.

Nom du plastifiant	Identifiants	Formules moléculaires et structures chimiques		Utilisation en clinique
<b>Benzyl-Butyl-Phtalate (BBP)</b>	CAS : 85-66-7	$C_{19}H_{20}O_4$		Non utilisé
<b>Acetyl TriButyl Citrate ou Tributyl 2-acetylcitrate (ATBC)</b>	CAS : 77-90-7	$C_{20}H_{34}O_8$		Nutrition entérale et parentérale ECMO
<b>Di-2-EthylHexyl-Phtalate (DEHP)</b>	CAS : 117-81-7	$C_{24}H_{38}O_4$		ECMO Transfusion
<b>Di-2-ethylhexyl Adipate (DEHA)</b>	CAS : 103-23-1	$C_{22}H_{42}O_4$		Hémodialyse Transfusion
<b>Di-2-ethylhexyl téréphtalate (DEHT)</b>	CAS : 6422-86-2	$C_{24}H_{38}O_4$		Perfusion Transfusion
<b>Di-isononylphtalate (DINP)</b>	CAS : 28553-12-0	$C_{26}H_{42}O_4$		Nutrition parentérale Perfusion Transfusion
<b>Diisononylcyclohexane-1,2-dicarboxylate (DINCH)</b>	CAS : 166412-78-8	$C_{26}H_{48}O_4$		Nutrition entérale Perfusion
<b>Trioctyltrimellitate (TOTM)</b>	CAS : 3319-31-1	$C_{33}H_{54}O_6$		Nutrition entérale et parentérale Hémodialyse Transfusion

**Tableau 2 :** Structures chimiques des plastifiants et domaines d'utilisation selon les dispositifs médicaux.

a. Métabolisation des plastifiants alternatifs au DEHP

Les métabolites primaires et secondaires des différents plastifiants sont listés dans le tableau 3.

Plastifiants	Métabolites primaires majoritaires	Métabolites secondaires majoritaires
ATBC (2)	Monobutyl citrate	
DEHP (40)	MEHP	5OH-MEHP 5cx-MEPP 5oxo-MEHP
DEHA (41)	MEHA	MEHHA MEOHA
DEHT (42)	MEHT TPA 2-EH	
DINP (2)	MINP	OH-MINP Oxo-MINP Cx-MINP
DINCH (43–45)	MINCH CHDA	OH-MINCH Oxo-MINCH Cx-MINCH
TOTM (2)	MOTM DOTM 2-EH	

**Tableau 3** : Liste des métabolites primaires et secondaires pour chaque plastifiant.

- *MEHP* : mono-2- éthylhexyl phtalate - *5OH-MEHP* : mono-2-ethyl-5-hydroxyhexyl phtalate - *5cx-MEPP* : mono-2-éthyl-5-carboxypentyl phtalate - *5oxo-MEHP* : mono-2-ethyl-5-oxohexyl phtalate
- *MEHA* : mono-2-éthylhexyl adipate - *MEHHA* : mono-2éthylhydroxyhexyl adipate – *MEOHA* : mono-2-éthylhexyl adipate
- *MEHT* : monoéthylhexyle téréphtalate - *TPA* : acide téréphtalique - *2-EH* : 2 éthylhexanol
- *MINP* : mono-isosonyl phtalate - *OH-MINP* : hydroxy-mono-methyloctyl phtalate – *Oxo-MINP* : oxo-mono-methyloctyl phtalate – *Cx-MINP* : carboxy-mono-methyloctyl phtalate
- *CHDA* : cyclohexane-1,2-dicarboxylique acide – *MINCH* : cyclohexane-1,2-dicarboxylique acide-mono-4- methyloctyl ester - *OH-MINCH* : cyclohexane-1,2-dicarboxylique monohydroxyisononyl ester – *Oxo-MINCH* : cyclohexane-1,2-dicarboxylique monooxoisononyl ester – *Cx-MINCH* : cyclohexane-1,2-dicarboxylique monocarboxyisooctyl ester
- *MOTM* : monoocyl trimellitate – *DOTM* : dioctyl trimellitate - *2-EH* : 2 éthylhexanol

b. Toxicité des plastifiants alternatifs au DEHP

La toxicité des plastifiants alternatifs au DEHP n'a fait l'objet que de peu d'études chez l'homme.

L'ATBC engendre, chez les rats, une induction du cytochrome P450 3A4, aucune toxicité génique, ni reproductive n'est retrouvée (46). Chez l'homme, des études *in*

*vitro* ont montré que l'ATBC était responsable d'une augmentation de l'ARN messenger du cytochrome P450 3A4, d'une augmentation de l'activité enzymatique des cellules intestinales humaines et d'une accélération de la dégradation du catabolisme de la vitamine D (47). Toutefois, les données de toxicité sont très peu nombreuses. Dans le cadre du règlement REACH (28) régissant le contrôle des substances chimiques, le Ministère de l'Environnement avait chargé en 2015 l'agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) de réaliser une analyse de la meilleure option de gestion des risques concernant l'ATBC. L'ANSES ne considère pas que l'ATBC soit toxique pour la reproduction et le développement. De plus, l'agence écarte le caractère de perturbateur endocrinien pour l'être humain, notamment en raison de l'insuffisance ou de l'absence d'informations allant dans ce sens (48). En effet, aucune étude ne s'est intéressée à la toxicité humaine (3).

Le DEHA favoriserait la prolifération du peroxysome chez l'homme (41,49). Il semblerait, de plus, avoir une toxicité sur le système reproductif et serait toxique sur le développement embryofœtal.

Le DEHT, isomère structurel en para du DEHP, ne semble pas provoquer de tumeurs et possède un faible niveau de toxicité (50). Cette différence structurelle est centrale en ce qui concerne le métabolisme et les effets toxicologiques entre le DEHP et le DEHT. Les études ont montré que le DEHT ne provoquait pas de troubles endocriniens, ni de carcinogénéité (50,51).

La toxicité du DINP semble similaire à celle du DEHP mais à des doses d'exposition plus élevées. On retrouve chez les rats exposés au DINP, des anomalies du développement embryonnaire et fœtal (anomalies squelettiques et génito-urinaires). Après une exposition par voie orale, une augmentation significative des tumeurs hépatiques a été mise en évidence.

Chez les rats, le DINCH ne provoque pas de perturbation endocrinienne et ne semble pas être toxique pour la reproduction. Toutefois, à hautes doses, chez le rat, après une exposition par voie orale, il est associé à une hyperplasie thyroïdienne, à des signes de toxicités rénale et hépatique (52,53). David *et al.* (54) n'ont pas mis en évidence de toxicité chez les rats, après une exposition de DINCH par voie intraveineuse. La stabilité du DINCH dans les poches de sang a été étudiée, pour remplacer le DEHP par ce plastifiant, mais l'étude menée par AuBuchon *et al.* (9) a



montré que 24% des globules rouges de plus sont vivants dans les poches de PVC plastifié au DEHP par rapport aux poches plastifiées au DINCH.

Le TOTM serait moins hépatotoxique que le DEHP pour les rats (2), mais peu de données sont disponibles chez l'homme. Cependant, il serait à l'origine d'une diminution du nombre de spermatozoïdes et de spermatides (3). La toxicité hépatique plus faible semble être liée à son métabolisme. En effet, 75% de la dose orale ingérée est éliminée dans les fécès sous forme inchangée (46). Chez les rats, il a été mis en évidence que le TOTM affectait trois processus hépatiques : le cycle cellulaire, le processus métabolique et l'activité oxydative (55). Après une administration par voie injectable, 21% de la dose est retrouvée dans les fécès et 3% dans les urines, ce qui laisse supposer que le TOTM a une longue demi-vie et s'accumule dans les tissus (56).

#### c. Etudes de migration des plastifiants

Compte tenu des toxicités des plastifiants, il est intéressant de connaître leur potentiel migratoire pour apprécier les risques liés à leur utilisation pour les patients. De fortes concentrations de DEHP ont été retrouvées dans des solutions de principes actifs telles que les solutions de taxanes (cabazitaxel, docétaxel ou paclitaxel) ou les solutions d'étoposide (57–60).

Les émulsions lipidiques injectables (2,61) sont également capables de conduire à la désorption. Une équipe allemande a corrélié l'utilisation de lignes de perfusion en PVC plastifié au DEHP pour l'administration de nutrition parentérale à l'apparition de cholestases (62). Pour cela, deux groupes ont été comparés rétrospectivement. L'utilisation de lignes de perfusion en PVC plastifié au DEHP augmentait d'un facteur 5,6 le risque de développer une cholestase.

Kambia *et al.* (63) se sont intéressés à la migration du DEHP et du TOTM dans les tubulures d'hémodialyse. Les auteurs ont dosé moins de plastifiants dans les éluats issus des tubulures plastifiées au TOTM que dans ceux issus des tubulures plastifiées au DEHP. Bernard *et al.* (11,12) ont mis au point un modèle de migration *in vitro* des plastifiants et l'ont étudiée au travers de tubulures en PVC plastifié par du DEHP, du DEHT, du DINCH ou du TOTM. Pour cela, ils ont utilisé *in vitro* un mélange « simulant » composé d'éthanol et d'eau 50/50. Ce modèle a permis l'extraction des plastifiants de quatre tubulures commercialisées. Leur étude a permis

de montrer que le DEHP était le plastifiant migrant le plus, suivi du DINCH puis du DEHT. Le plastifiant qui migrerait le moins était le TOTM.

Eckert *et al.* (64) ont également mené une étude en réalisant un dosage sanguin des plastifiants et de leurs métabolites primaires (MEHP, di-2-ethylhexyl trimellitate (DEHTM), mono-2-ethylhexyl trimellitate (MEHTM)) après passage dans des canules d'ECMO plastifiées au TOTM ou au DEHP. L'étude a abouti aux mêmes conclusions que Bernard *et al.* puisqu'ils ont également montré que le DEHP migrerait beaucoup plus que le TOTM.

Ces données permettent d'affirmer que les plastifiants ne sont pas dénués de toxicité, et qu'ils sont susceptibles de migrer comme le DEHP. Pour répondre à ces questions, un projet national, *Assessment and Risk Management of MEDical Devices in plastified PVC* (ARMED) a été développé dans plusieurs centres hospitaliers et universitaires français.

#### 4. Projet ARMED

Le projet ARMED (65) concerne l'évaluation et la gestion des risques liés aux DMs en PVC plastifié. Compte tenu du peu de données disponibles concernant la migration et la toxicité chez l'homme de ces plastifiants alternatifs, l'ANSM a financé ce projet lors de l'appel à projet de 2012 pour une durée de trois ans (2013-2015). Le projet, porté par le CHU de Clermont-Ferrand est divisé en plusieurs axes et implique des partenaires à Nantes et à Lille (Annexe I). L'axe 1 s'intéresse à la caractérisation et la migration des plastifiants contenus dans les DMs. Pour caractériser les plastifiants, plusieurs méthodes de dosage ont été mises au point. De plus, le pouvoir de migration des plastifiants à partir des DMs a été évalué puis une modélisation a ensuite été mise au point pour prédire la capacité migratoire d'un plastifiant. L'axe 2 regroupe le protocole de recherche non interventionnelle qui s'est déroulé dans quatre services du CHU de Clermont-Ferrand (service de réanimation médicale, réanimation adulte, réanimation néonatale et service de bloc – chirurgie et réanimation de chirurgie cardiovasculaire (CCV)) et dans deux services du CHRU de Lille (réanimation néonatale et réanimation et bloc CCV). Ce protocole a pour objectif d'évaluer l'exposition des patients aux plastifiants du PVC en situations cliniques « à risque » décrites par le SCENIHR (dialyse, CEC, ECMO, plasmaphérèse, nutrition artificielle). A l'issue de cette étude de biomonitoring, les dosages des plastifiants et

de leurs métabolites retrouvés dans les urines de patients seront effectués par chromatographie liquide couplée à une spectrométrie de masse, tandis que les taux de plastifiants retrouvés dans tous les dispositifs utilisés lors de cette étude seront évalués par une ou plusieurs des techniques développées dans l'axe 1. L'axe 3 est dédié aux études de cytotoxicité et sont réalisées par l'équipe nantaise.

a. Méthodes de dosage des plastifiants dans les dispositifs médicaux

Les méthodes analytiques mises au point permettent la détection des plastifiants directement dans les dispositifs médicaux et/ou dans des éluats (sanguins (61), urinaires (25,44,66)). Bernard *et al.* (17) ont conduit une revue de la littérature de ces méthodes. Il existe une grande diversité de techniques analytiques : destructrices ou non, directes ou indirectes. Les méthodes directes ne nécessitent pas d'étape d'extraction du plastifiant avant sa quantification.

On compte, parmi les méthodes analytiques directes, la RMN (35), la technique par FT-IR (13,67). Elles possèdent une bonne spécificité mais posent des problèmes de sensibilité, de durée d'analyse et de coût.

Parmi les méthodes indirectes, la CG et la CLHP sont les techniques les plus utilisées pour le dosage des plastifiants. La CG, couplée soit à la spectrométrie de masse (37,68) soit à un détecteur à ionisation de flamme (CG-FID) (69), permet la détection de nombreux plastifiants en étant sensible et spécifique au cours d'une même analyse. La CLHP est une technique, quant à elle, très largement diffusée et disponible dans les laboratoires de contrôle des PUI. Elle peut être couplée à différents détecteurs qui présentent des avantages et des inconvénients. Certaines méthodes ont déjà été développées. La CLHP couplée à détection UV utilisée par Radaniel *et al.* (70) a permis la caractérisation de cinq plastifiants (le ATBC, le DEHP, le DEHT, le DINCH et le TOTM) simultanément au cours d'une seule analyse. La CLHP peut également être couplée à un détecteur évaporatif à diffusion de lumière (DEDL), technique développée par Lecoer *et al.* (71). Elle permet la détection de l'ATBC, le DEHA, le DEHT et le TOTM. L'utilisation d'une phase stationnaire en carbone graphitique poreux, en CLHP (72), a permis la séparation de cinq plastifiants (l'ATBC, le DEHA, le DEHP, le DEHT et le TOTM).

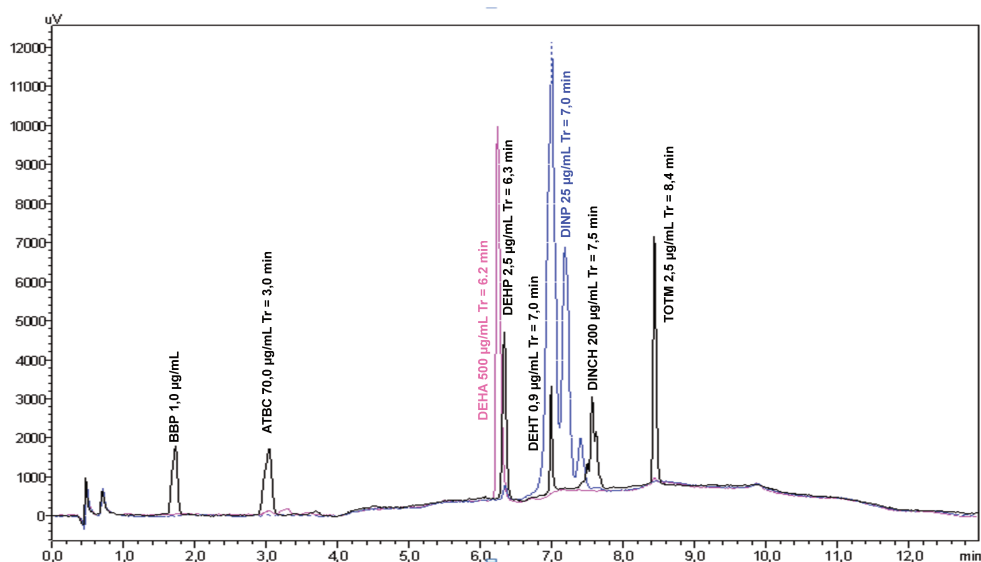
Genay *et al.* (35) et Gimeno *et al.* (37) ont montré que certains DMs n'étaient pas uniquement composés d'un seul plastifiant mais pouvaient contenir d'autres plastifiants à l'état de traces comme le DEHT ou le DEHP. Il est donc nécessaire que ces méthodes analytiques présentent des limites de détection (LD) et de quantification (LQ) suffisamment basses pour permettre la détection de ces traces.

#### b. Procédures d'extraction

Les méthodes analytiques de dosage comme par exemple, la CLHP ou la CG, nécessitent une étape préalable d'extraction des plastifiants avant la réalisation de leur quantification. Wang *et al.* (73) et Genay *et al.* (35) ont publié une procédure d'extraction utilisant un processus de solubilisation/précipitation du PVC avec du tétrahydrofurane (THF) et du méthanol pour libérer le DEHP du maillage du PVC constituant des tubulures de perfusion. Bernard *et al.* (69) a comparé trois techniques d'extraction. La première correspond à l'extraction Soxhlet<sup>®</sup> dans de l'éther di-éthylique et dans de l'acétate d'éthyle. La seconde consiste à dissoudre l'échantillon de PVC dans du THF puis de le précipiter dans de l'éthanol. Le solvant est ensuite évaporé, et les plastifiants sont séparés du PVC par filtration. La dernière méthode consiste à mettre en contact le PVC avec un solvant (l'acétate d'éthyle, l'hexane ou le chloroforme) permettant ainsi l'extraction des plastifiants. L'extraction utilisant le chloroforme est la technique qui présente des rendements d'extraction des plastifiants les plus élevés. Toutefois, pour une technique CLHP-UV, le chloroforme est incompatible et doit être évaporé avant injection de l'échantillon dans le système chromatographique. Cela nécessite donc une étape supplémentaire de dilution de l'échantillon dans un solvant approprié comme l'acétonitrile. Radaniel *et al.* (70) ont utilisé la technique d'extraction par THF/méthanol suivie d'un dosage en CLHP-UV pour extraire les plastifiants contenus dans des tubulures de PVC plastifié. Les rendements d'extraction pour l'ATBC, le DEHP, le DEHT, le DINCH et le TOTM étaient compris entre 91 et 104%.

La méthode de dosage de Radaniel *et al.* (70) permet la détection et la quantification de cinq plastifiants dont quatre alternatifs au DEHP : l'ATBC, le DEHT, le DINCH et le TOTM. Dans cette méthode, le BBP est utilisé comme étalon interne. En effet, comme, le BBP est interdit dans les DMs, il peut être utilisé comme étalon interne. Parmi les six plastifiants alternatifs au DEHP autorisés par la réglementation en

vigueur, la détection du DEHA et du DINP n'a pu être réalisée car ces plastifiants, dans les conditions analytiques de la méthode, étaient systématiquement co-élus avec le DEHP et le DEHT respectivement. La figure 4 représente les chromatogrammes obtenus avec la technique analytique de Radaniel *et al.*



**Figure 4** : Chromatogrammes illustrant les problèmes de co-élutions rencontrés par Radaniel *et al.* (70). Le chromatogramme noir représente l'élution des plastifiants analysés par Radaniel *et al.* ; le chromatogramme rose le DEHA seul et le chromatogramme bleu le DINP seul.

## 5. Objectifs

Le premier objectif de ce travail est de résoudre les problèmes de co-élution précédemment cités pour permettre la détection et la quantification du DEHP et de tous les plastifiants alternatifs utilisés dans la fabrication des DMs de perfusion. Pour résoudre cette problématique, nous utiliserons la dérivée première des spectres UV des composés co-élus.

Le second objectif est d'utiliser la méthode analytique pour valider la robustesse de la technique analytique grâce à une analyse à l'aveugle. Cette analyse à l'aveugle porte sur la quantification des plastifiants utilisés dans dix DMs dont neuf sont commercialisés et est réalisée par plusieurs techniques analytiques participantes au projet ARMED.

### III. MATERIELS ET METHODES

#### 1. Solvants et matériels

##### a. Plastifiants

Le DEHP et cinq plastifiants alternatifs étudiés (ATBC, DEHA, DEHT, DINP et TOTM) proviennent de Sigma-Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France). Le DINCH est fourni gracieusement par BASF SE Company (Ludwigshafen, Allemagne).

##### b. Solvants

L'acétonitrile (ACN) (HiPerSolv Chromanorm<sup>®</sup> gradient grade, VWR, Fontenay-sous-Bois, France), le méthanol (HiPerSolv Chromanorm<sup>®</sup> gradient grade, VWR, Fontenay-sous-Bois, France) et le THF (HiPerSolv Chromanorm<sup>®</sup> gradient grade, VWR, Fontenay-sous-Bois, France) ont une qualité CLHP gradient grade pour les analyses chromatographiques. Les solvants utilisés pour nettoyer le matériel afin de réduire le risque de contaminations croisées entre les consommables sont de qualité technique : méthanol (Brabant, Tressin, France) et THF (VWR Chemicals, Fontenay-sous-Bois, France). De l'eau ultra-pure est également utilisée dans la méthode et est obtenue grâce au système UHQ pure water system (Elga, Wasquehal, France).

##### c. Matériels

La verrerie est de classe A (VWR, Fontenay-sous-Bois, France). Les pointes de micropipette (Eppendorf<sup>®</sup> Iorention (Eppendorf<sup>®</sup>, Fontenay-sous-Bois, France) et les microtubes de centrifugation (Eppendorf<sup>®</sup>, Fontenay-sous-Bois, France) sont en plastique dépourvu de plastifiants (71). Ils ont préalablement été validés comme ne relarguant pas de plastifiants. Pour limiter au maximum les contaminations croisées et environnementales, les matériels en verre (fioles, béchers, flacons pour CLHP) ont été lavés au THF, puis méthanol et rincés à l'eau distillée avant chaque utilisation.

## 2. Préparation des solutions mères et filles

Chaque jour, deux solutions mères de chaque plastifiant sont réalisées en pesant la masse de plastifiant (balance 220 XT, précision  $\pm 0,1$  mg, Precisa Gravimetrics AG, Dietikon, Suisse) diluée avec de l'ACN. Du fait de la faible absorbance de certains plastifiants, deux concentrations de solutions mères sont envisagées. Ainsi, la concentration pour le BBP, le DEHP, le DEHT, le DINP et le TOTM est de 0,5 mg/mL et pour l'ATBC, DEHA et DINCH de 10 mg/mL. La première solution permet la préparation des contrôles de qualité (CQ) et la seconde la réalisation des standards de validation (SV). Deux gammes de CQ et de SV sont réalisées. L'une des deux gammes contient tous les plastifiants et le BBP sauf le DEHA et l'autre tous les plastifiants et le BBP sans le DEHT. En effet, des résultats préliminaires, au laboratoire, ont montré que le DEHA et le DEHT précipitaient s'ils étaient mis en présence l'un de l'autre.

## 3. Méthode analytique

La méthode de dosage est développée avec un système de chromatographie liquide ultra rapide (UFPLC : *Ultra Fast Pressure Liquid chromatography*) (Shimadzu<sup>®</sup>, Japon). Le système est équipé d'un dégazeur de phase mobile DGU-20A3R, de deux pompes à solvants LC-20ADXR (Prominence<sup>®</sup> UFLCXR series), d'un passeur d'échantillons automatique SIL-20ACXR, d'un four CTO-20AC et d'un détecteur à barrette de diodes (DAD) SPD-M20A. Le système est piloté par le module i-PDeA<sup>™</sup> du logiciel Labsolution<sup>®</sup> de Shimadzu<sup>®</sup>.

La phase mobile est composée d'un gradient composé d'ACN et d'eau ultrapure, dont l'évolution de la composition au cours du temps d'analyse est décrite dans le tableau 4. Le débit de la phase mobile est fixé à 2 mL/min, avec une durée de chaque analyse de 13 minutes. La température du four est maintenue à 35°C. Le passeur d'échantillon est maintenu à 4°C. La phase stationnaire est composée d'une précolonne Securityguard ULTRA<sup>™</sup> C8 AJ0-8770 (Phenomenex<sup>®</sup>, Le Pecq, France) et d'une colonne Kinetex<sup>™</sup> C8 2,6  $\mu$ m 100 \* 4,6 mm (Phenomenex<sup>®</sup>, Le Pecq, France).

Temps (min)	Composition du mélange (% ACN/eau ultrapure)
0 – 3,75	65 – 35
3,75 – 6,25	83 – 17
6,25 – 11,00	95 – 5
11,00 – 13,00	65 – 35

**Tableau 4** : Description de l'évolution du gradient de concentration utilisé dans la méthode de dosage des plastifiants.

#### 4. Traitement du signal

##### a. Contexte et problème

Pour élucider les co-élutions existant d'une part entre le DEHP et le DEHA et, d'autre part, entre le DEHT et le DINP, nous avons décidé d'utiliser la dérivée première des spectres UV de ces quatre plastifiants.

##### b. Principe

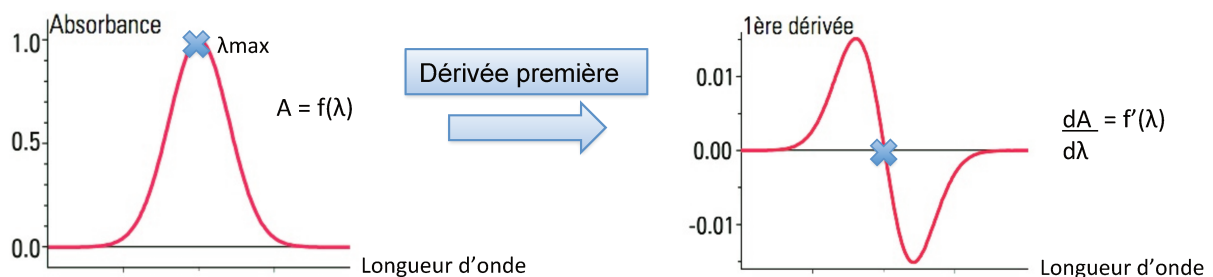
La dérivée première des spectres est une notion plutôt bien décrite dans la littérature. Parmar *et al.* (74) ont fait une revue de la littérature sur l'utilisation des dérivées premières des spectres en spectrophotométrie. Ils listent les différents avantages de l'utilisation des dérivées premières : une augmentation de la résolution, une détection et une augmentation des spectres des pics mineurs, une élimination du bruit de fond et des matrices, l'assurance de détecter le bon composé, une augmentation de la sensibilité et de la spécificité des composés en mélange, une meilleure séparation des pics, une économie de réactifs, un gain de temps d'analyse et de temps de personnel. Toutefois il note des inconvénients comme une moins bonne reproductivité et sensibilité. La majorité des études présentes dans la littérature compare l'utilisation des dérivées premières des spectres en spectrophotométrie et en CLHP. Ansari *et al.* (75) ont dosé du losartan dans des comprimés. Pour être certain de doser le principe actif et non pas les excipients, ils ont utilisé, en spectrophotométrie, la dérivée première du spectre du losartan. L'avantage d'avoir utilisé la dérivée première est d'éliminer l'interférence due à l'absorbance des excipients. Uchiyama *et al.* (76) ont utilisé la dérivée seconde du spectre du trimétoprime dans le miel pour doser ce principe actif par un système



d'extraction en phase solide – CLHP. La dérivée seconde leur a permis d'effacer les effets matrices dûs au miel, que la dérivée première ne permettait pas. Hoang *et al.* (77) ont dosé plusieurs principes actifs (chloramphénicol, dexaméthasone et naphazoline) contenus dans des collyres en utilisant la dérivée première des spectres en spectrophotométrie. Cette méthode a été comparée à une méthode de référence par CLHP en phase inverse. Les résultats de la validation de la méthode avec les deux techniques étaient statistiquement comparables en termes de précision.

Le principe de l'utilisation de la dérivée première des spectres UV est schématisé dans la figure 5. L'absorbance d'un composé est fonction de la longueur d'onde d'intérêt. Elle passe par une ou plusieurs longueur(s) d'onde d'absorbance maximale(s) ou minimale(s). En dérivant mathématiquement l'équation des spectres UV, l'absorbance du spectre dérivé passe une ou plusieurs fois par zéro. Il reste à vérifier qu'à ces longueurs d'onde où la dérivée première est nulle, l'autre composé présente une absorbance non nulle (positive ou négative).

En CLHP, pour utiliser ce principe, un DAD et un logiciel de traitement des spectres sont nécessaires (logiciel i-PDeA™ Shimadzu®).



**Figure 5** : Principe de l'utilisation de la dérivée première des spectres UV.  
A : absorbance,  $\lambda$ : longueur d'onde

### c. Choix des longueurs d'onde

Pour détecter les plastifiants, en étant le plus spécifique et le plus sensible, la longueur d'onde correspondant au maximum d'absorbance a été choisie pour le BBP, l'ATBC, le DINCH et le TOTM. Pour les plastifiants co-élués, à savoir, le DEHP,

le DEHA, le DEHT et le DINP, la longueur d'onde déterminée par l'étude de la dérivée première des spectres UV a été utilisée pour les caractériser selon le principe précédemment décrit.

#### 4. Validation de la méthode analytique

La méthode est validée selon les recommandations proposées par Hubert *et al.* de la Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques (SFSTP) (78,79). La validation est réalisée sur trois jours successifs. Pour chaque plastifiant, deux solutions mères sont préparées, à la même concentration et selon le même procédé de fabrication. Chaque jour, les SV et CQ sont analysés. Des résultats préliminaires, au laboratoire, ont montré que le DEHA et le DEHT précipitaient s'ils étaient mis en présence l'un de l'autre. Ainsi, deux gammes (tableau 5) ont été réalisées, l'une contenant tous les plastifiants sauf le DEHA et l'autre sans le DEHT.

	Concentrations en µg/mL														
	SV1	CQ1	SV2	CQ2	SV3	CQ3	SV4	CQ4	SV5	CQ5	SV6	CQ6	SV7	CQ7	SV8
<b>BBP</b>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<b>ATBC</b>	20	20	30	35	40	50	60	70	80	90	100	200	250	400	500
<b>DEHP</b>	0,3	0,3	0,4	0,6	0,7	0,8	1	2,5	5	10	15	20	25	30	40
<b>DEHA</b>	70	70	75	80	90	100	150	200	250	300	450	500	600	700	750
<b>DEHT</b>	0,3	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1	2,5	5	7,5	10	15	20
<b>DINP</b>	0,3	0,3	0,4	0,6	0,7	0,8	1	2,5	5	10	15	20	25	30	40
<b>DINCH</b>	70	70	75	80	90	100	150	200	250	300	450	500	600	700	750
<b>TOTM</b>	0,3	0,3	0,4	0,6	0,7	0,8	1	2,5	5	10	15	20	25	30	40

**Tableau 5** : Concentrations des standards de validation et des contrôles de qualité des plastifiants utilisés lors de la validation.

SV : standards de validation, CQ : contrôles de qualité

La méthode est validée selon les paramètres suivants : spécificité, linéarité, précision, limites de détection (LD) et limites de quantification (LQ). Les LD et LQ ont été calculées selon les équations suivantes (78,79) :

$$\text{Equation 1: LD} = \frac{3,3 \times \text{écart-type de l'ordonnée à l'origine}}{\text{pente}}$$

$$\text{Equation 2: LQ} = \frac{10 \times \text{écart-type de l'ordonnée à l'origine}}{\text{pente}}$$

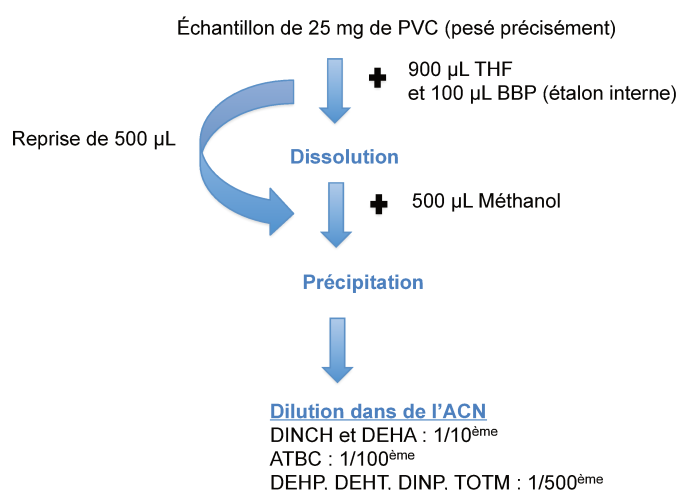
## 5. Méthode d'extraction

Les plastifiants sont extraits du PVC selon une méthode publiée par Genay *et al.* (35). 25 mg de l'échantillon de PVC sont pesés et mis en contact avec 900  $\mu\text{L}$  de THF et 100  $\mu\text{L}$  de BBP (étalon interne) pendant une heure, pour dissoudre le PVC. Les concentrations de BBP ajouté sont ajustées aux dilutions que devait subir l'échantillon de PVC pour l'analyse chromatographique, afin d'obtenir une concentration cible de 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (tableau 6).

Plastifiants	Concentration de la solution mère de BBP
DEHA DINCH	0,2 mg/mL
ATBC	2 mg/mL
DEHP DINP TOTM	10 mg/mL

**Tableau 6** : Concentrations de la solution mère de l'étalon interne.

Ensuite, 500  $\mu\text{L}$  du précédent mélange sont ajoutés à 500  $\mu\text{L}$  de méthanol pour précipiter le PVC. Après 5 minutes de centrifugation (Centrifuge 5415R, Eppendorf, Le Pecq, France) à 13000 tours/minute, le surnageant est dilué dans de l'ACN. La dilution du surnageant dans l'ACN est adaptée à la capacité d'absorbance dans l'UV de chaque plastifiant (71). Ainsi, pour le DEHA et le DINCH, qui absorbent peu en UV, la dilution est de 1/10<sup>ème</sup>, pour l'ATBC de 1/100<sup>ème</sup> et pour le TOTM, DEHP, DINP et DEHT de 1/500<sup>ème</sup> (figure 6).



**Figure 6** : Schématisation de la méthode d'extraction des plastifiants.  
ACN : acétonitrile, PVC : polychlorure de vinyle, THF : tétrahydrofurane

## 6. Echantillons de dispositifs médicaux analysés à l'aveugle

Afin d'évaluer la robustesse de la méthode analytique, dix dispositifs médicaux, dont neuf utilisés dans les services de soins, sont analysés en CLHP-DAD afin de déterminer leur composition en plastifiants. Les renseignements concernant les DMs sont résumés dans le tableau 7. Une tubulure Med 80, Raumedic® (Helmbrechts, Allemagne) dont la composition en DEHA est connue (22% m/m) est également étudiée.

Dans le cadre de l'axe 1 du projet ARMED, ces DMs sont analysés à l'aveugle par les différentes équipes participant au projet. L'objectif de cette analyse à l'aveugle est de caractériser les techniques analytiques en termes d'avantages et d'inconvénients. Ainsi, huit équipes ont participé à ce test à l'aveugle. Les différentes techniques analytiques utilisées sont :

- La FT-IR
- La CG-FID
- La CG-SM
- La CLHP-DEDL
- La CLHP-UV
- Notre technique CLHP-DAD
- La RMN
- La SFC-DEDL

Pour chaque dispositif analysé, la composition quantitative de chaque plastifiant majoritaire et minoritaire doit être déterminé. La présence de DEHP ainsi que sa quantification doit être retrouvée si le DM en contenait.

Seule la composition quantitative en plastifiant de l'échantillon 10 (tubulure Med 80, Raumedic®) est connue. Pour les autres échantillons, leur composition en plastifiants n'est pas connue. Ceci explique l'intérêt de doser les échantillons avec plusieurs méthodes analytiques pour pouvoir croiser les différents résultats et en déduire la pertinence des résultats obtenus.

Echantillon	Utilisation		Nom et référence du DM	Fournisseur	Numéro de lot
1	DM par gravité	Perfusion	Intrafix® Safeset 4063100	B.Braun (Boulogne-Billancourt, France)	3E30278T42
2			Perfusend	Sendal (Saint Genis Laval, France)	03169
3			KIS1X	Doran International (Toussieu, France)	19.11.05B
4		Transfusion	41403	Bexen (Villeneuve d'Ascq, France)	K293
5	Perfusion pour pompe volumétrique		Plumset 14000	Hospira (Meudon-la-Forêt, France)	030409000.8268
6			Optima MS 10	Frésenius-Kabi (Sèvres, France)	32377143
7			Vacuum 590-591-598	Carefusion (Voisins le Bretonneux, France)	487822
8	Nutrition entérale	Hydratation	NE9012H	Cair LGL (Lissieu, France)	13K01-T
9		Pompe	Kangaroo pump	Covidien (Elancourt, France)	14A243FHX
10	Prototype		Med 80 Prototype d'une tubulure plastifiée au DEHA	Raumedic® (GmbH, Helmbrechts, Allemagne)	

**Tableau 7** : Liste des dispositifs médicaux analysés.

Chaque dispositif est testé trois fois. Le pourcentage de plastifiant est exprimé en pourcentage de masse de g/100g de PVC (%). Les résultats sont présentés sous la forme de moyenne  $\pm$  écart-type.

## IV. RESULTATS

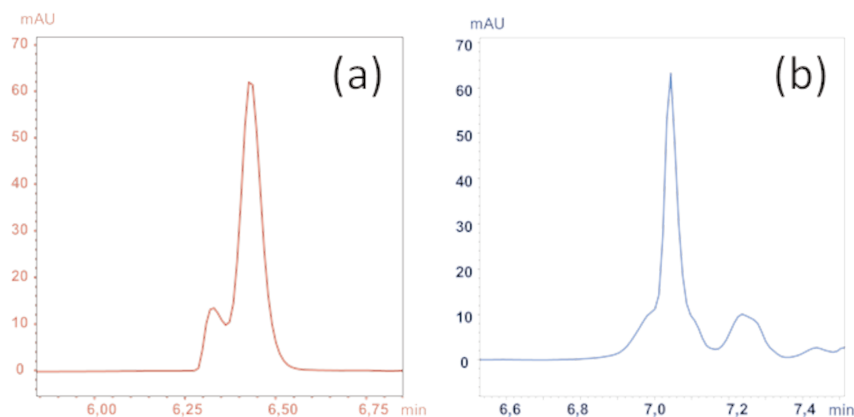
### 1. Développement de la méthode de dosage

Au cours d'une séquence analytique de 13 minutes, les huit plastifiants sont élués. Les temps de rétention des plastifiants sont décrits dans le tableau 8.

Plastifiants	Temps de rétention (min)
<b>BBP</b>	1,9
<b>ATBC</b>	3,0
<b>DEHP</b>	6,3
<b>DEHA</b>	6,3
<b>DEHT</b>	7,0
<b>DINP</b>	7,0
<b>DINCH</b>	7,5
<b>TOTM</b>	8,4

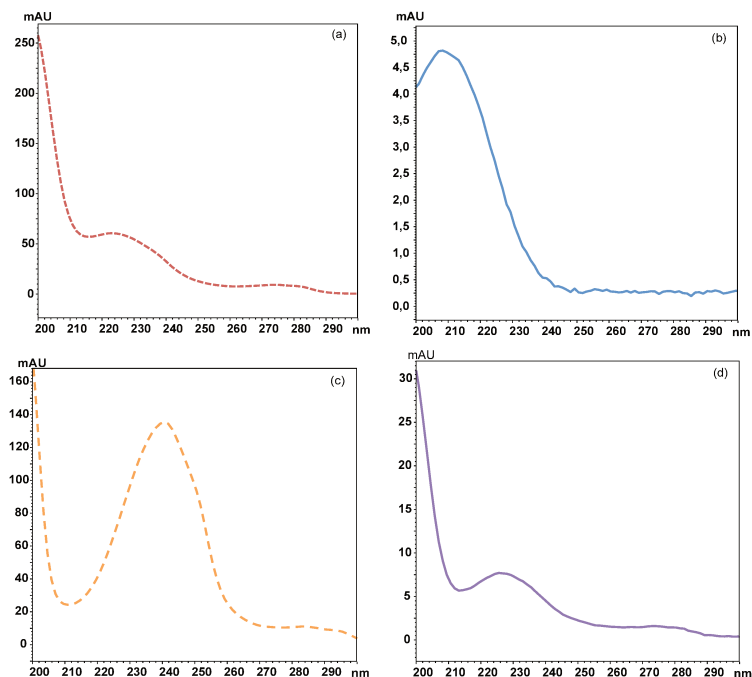
**Tableau 8** : Temps de rétention des plastifiants.

La figure 7a représente la co-élution DEHP/DEHA et la figure 7b la co-élution DEHT/DINP.



**Figure 7** : Chromatogrammes illustrant la co-élution DEHP/DEHA (a) et la co-élution DEHT/DINP (b).

La figure 8 représente les spectres d'absorption dans l'ultra-violet du DEHP, du DEHA, du DEHT et du DINP.



**Figure 8** : Spectres d'absorption dans l'UV du DEHP (a), du DEHA (b), du DEHT (c) et du DINP (d).

Après avoir déterminé les dérivées premières des spectres UV du DEHA et du DEHP, les longueurs d'onde dont l'absorbance est égale à zéro sont déterminées. Pour chacune de ces longueurs d'onde choisies, il est vérifié que l'autre composé absorbait à cette même longueur d'onde. Les longueurs d'onde pour lesquelles la dérivée première du DEHP est égale à zéro sont :

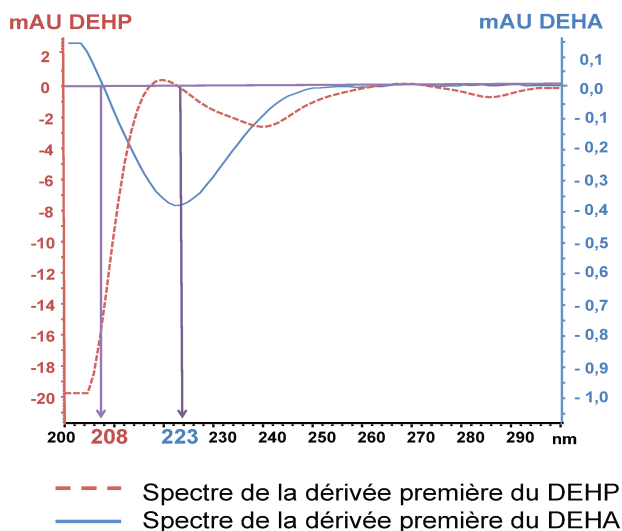
- 223 nm (longueur d'onde correspondant au maximum d'absorbance)
- 261 nm (longueur d'onde correspondant au minimum d'absorbance)

Toutefois, à 261 nm, la dérivée première du DEHA n'absorbait que très faiblement, cette longueur d'onde n'a pas été retenue, au profit de 223 nm.

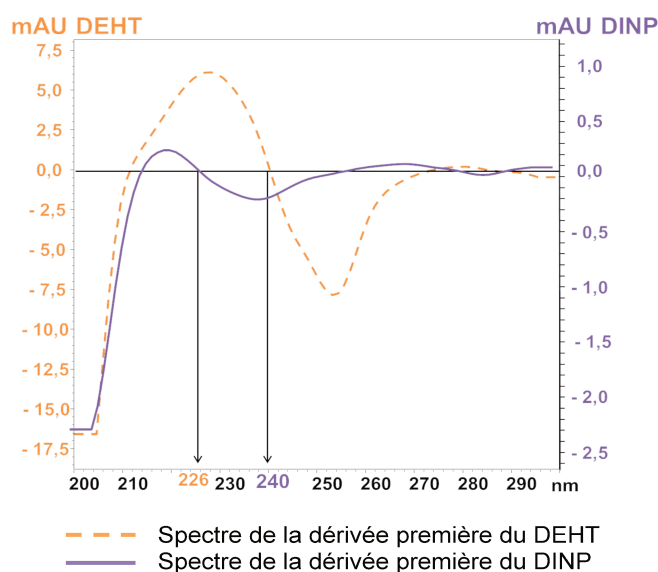
Pour le DEHP, la même démarche est appliquée. La dérivée première du spectre UV du DEHA s'annule à 208 nm et 250 nm. Mais, à 250 nm, la dérivée première du DEHP absorbe faiblement. La longueur d'onde choisie pour détecter le DEHP est 208 nm.

Concernant le DEHT et le DINP, le même raisonnement a été appliqué. Ainsi, la longueur d'onde pour détecter le DEHT est 226 nm et pour le DINP 240 nm.

Les figures 9 et 10 représentent les dérivées premières des spectres UV quatre produits co-élus deux à deux : DEHP/DEHA et DEHT/DINP respectivement.



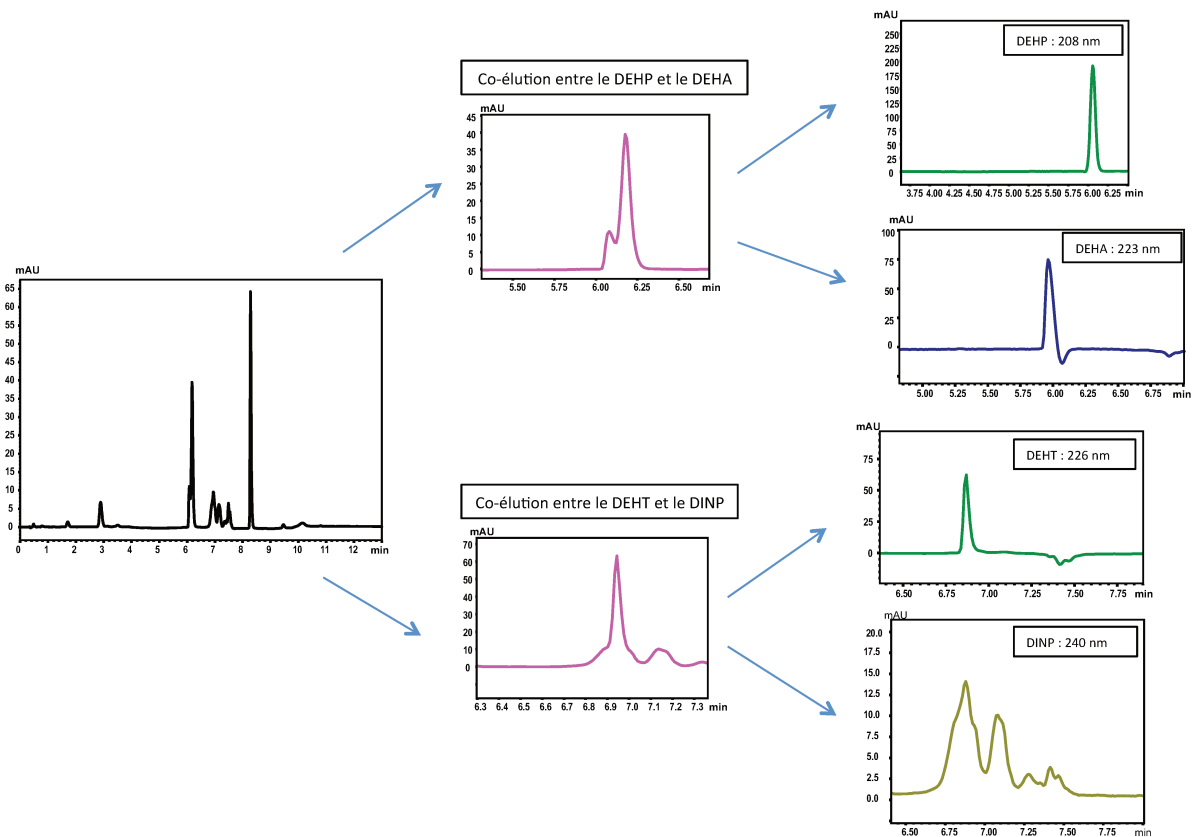
**Figure 9** : Spectres des dérivées premières du DEHP et du DEHA.



**Figure 10** : Spectres des dérivées premières du DEHT et du DINP.

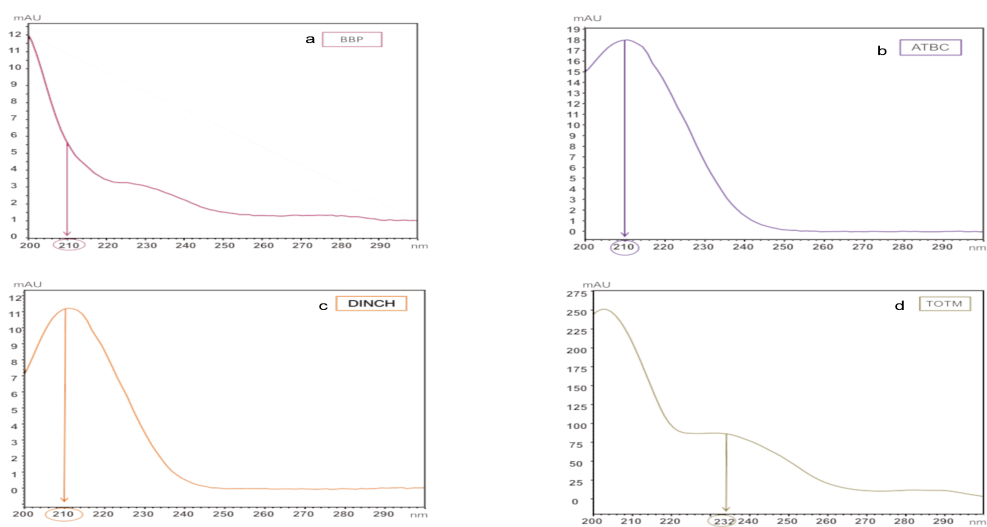
La figure 11 représente les chromatogrammes des deux co-élutions et les chromatogrammes des composés seuls à la longueur d'onde déterminée par l'étude de la dérivée première. Le DINP est élué dans l'analyse, à 7 minutes sous forme de trois pics dont deux sont très largement majoritaires. Pour l'intégrer, l'aire des deux pics majoritaires est utilisée.





**Figure 11** : Chromatogrammes représentant les coélutions et les composés seuls à la longueur d'onde déterminée par l'étude de la dérivée première.

Pour augmenter la sensibilité de la méthode développée par Radaniel *et al.* (70), les autres plastifiants sont analysés à la longueur d'onde correspondant à leur longueur d'onde d'absorbance maximale (figure 12). Les longueurs d'onde choisies sont résumées dans le tableau 9.



**Figure 12** : Spectres d'absorption dans l'ultra-violet du BBP (a), de l'ATBC (b), du DINCH (c) et du TOTM (d).

Plastifiants	Longueur d'onde (nm)
BBP	210
ATBC	210
DEHP	208
DEHA	223
DEHT	226
DINP	240
DINCH	210
TOTM	232

**Tableau 9** : Longueurs d'onde (nm) d'analyse pour chaque plastifiant étudié.

## 2. Validation de la méthode de dosage

### a. Validation de la méthode

L'homogénéité des variances est vérifiée par un test de Cochran, nous autorisant à réaliser une analyse de la variance (ANOVA). Les paramètres de régression de la méthode sont résumés dans le tableau 10. Les SV permettent de calculer l'équation de la droite de régression qui correspond à :

$$y \text{ (aire plastifiant/aire BBP)} = a \times \text{(concentrations } \mu\text{g/mL)} + b$$

Les coefficients de corrélation ( $r^2$ ) sont compris entre 0,9974 (DEHP) et 0,9997 (DEHT). Ainsi, la linéarité entre le rapport de l'aire du plastifiant et du BBP et la concentration des plastifiants est satisfaisante pour une quantification.

Plastifiants	Concentrations ( $\mu\text{g/mL}$ )	$r^2$	pen	Ordonnée à l'origine	LD ( $\mu\text{g/mL}$ )	LQ ( $\mu\text{g/mL}$ )
ATBC	20 - 500	0,9993	0,012	0,016	3,1	6,3
DEHP	0,3 - 40	0,9974	0,359	0,026	0,1	0,2
DEHA	70 - 750	0,9992	0,006	-0,055	7,4	14,8
DEHT	0,3 - 20	0,9997	0,760	0,002	0,1	0,3
DINP	0,7 - 40	0,9991	0,151	-0,047	0,5	0,8
DINCH	70 - 750	0,9993	0,005	0,000	6,9	13,8
TOTM	0,3 - 40	0,9994	0,369	0,000	0,2	0,2

**Tableau 10** : Paramètres de validation des gammes de plastifiants et les limites de détection et quantification.

La précision de la méthode a également été déterminée par les CQ, au travers des biais relatifs (BR) (tableau 11). Pour calculer ces biais, les concentrations mesurées

sont calculées en utilisant la droite de calibration, puis en utilisant la formule décrite dans l'équation 3:

$$\text{Equation 3 : } \quad \text{BR} = \frac{\text{concentration mesurée} - \text{concentration théorique}}{\text{concentration théorique}} \times 100$$

Les biais relatifs sont inférieurs à 5% pour l'ATBC, le DEHP, le DEHA et le DINCH et inférieurs à 10% pour le DEHT, le DINP et le TOTM.

ATBC		DEHP		DEHA		DEHT		DINP		DINCH		TOTM	
Conc.	BR	Conc.	BR	Conc.	BR	Conc.	BR	Conc.	BR	Conc.	BR	Conc.	BR
20	-0,7	0,3	-2,0	70	0,2	0,3	0,6	0,7	8,8	70	-3,1	0,3	-7,1
30	1,9	0,4	-0,3	75	-0,1	0,4	-0,3	1	8,2	75	-4,7	0,4	-7,0
40	-0,6	0,7	-0,1	90	-2,2	0,7	7,4	5	10,0	90	-2,7	0,7	-2,7
60	1,4	1	4,6	150	1,8	1	4,7	15	4,4	150	1,3	1	-1,1
80	-0,1	5	1,4	250	3,4	5	5,2	25	3,3	250	1,2	5	1,7
100	2,2	15	1,9	450	1,4	15	4,0	40	0,2	450	0,3	15	3,0
250	-0,8	25	-1,3	600	-0,4	25	1,1			600	0,2	25	1,7
500	2,0	40	1,9	750	0,8	40	0,6			750	-0,7	40	3,2

**Tableau 11** : Biais relatifs pour chaque plastifiant étudié.  
BR : biais relatifs en %, Conc. : concentration en µg/mL

### b. Limites de détection et quantification

Les LD et LQ sont présentées dans le tableau 10. Ces valeurs sont compatibles avec leurs détection et quantification en tant que plastifiant majoritaire ou minoritaire dans les DMs.

### 3. Echantillons de dispositifs médicaux analysés à l'aveugle

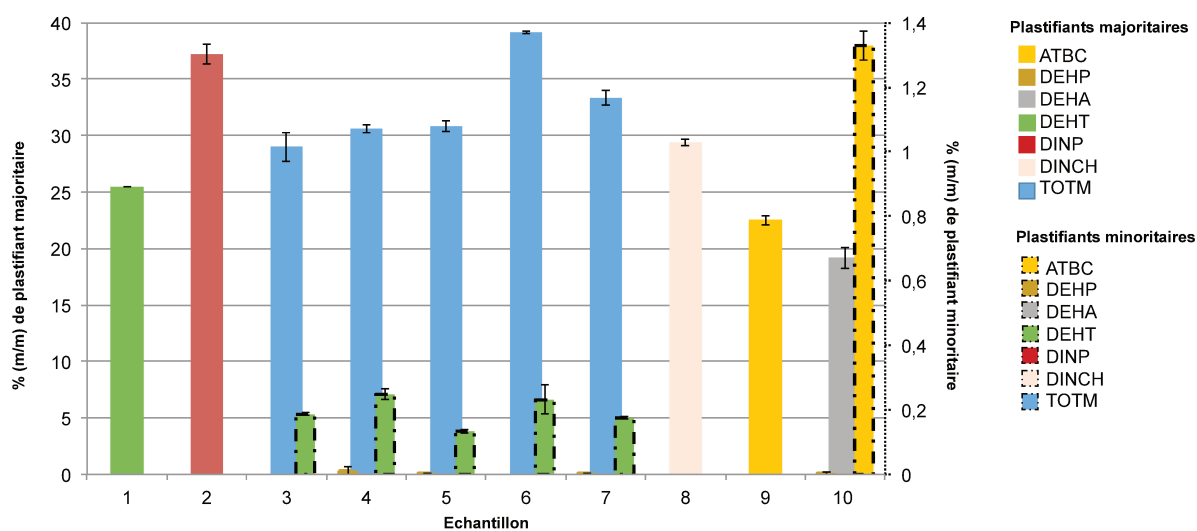
Le tableau 12 et la figure 13 ci-dessous résument les concentrations de plastifiants calculés dans les 10 dispositifs médicaux étudiés à l'aveugle qui sont dosés en CLHP-DAD. Le tableau 13 correspond aux quantifications des plastifiants retrouvés avec les autres techniques qui ont participé au projet ARMED.

Echantillon	Plastifiant majoritaire	% (m/m)	Plastifiant minoritaire	% (m/m)
1	DEHT	25,410 ± 0,442	ND	ND
2	DINP	37,201 ± 0,873	ND	ND
3	TOTM	29,022 ± 1,292	DEHT	0,186 ± 0,004
4	TOTM	30,605 ± 0,374	DEHT DEHP	0,248 ± 0,016 0,125 ± 0,012
5	TOTM	30,835 ± 0,460	DEHT DEHP	0,134 ± 0,006 0,011 ± 0,002
6	TOTM	39,136 ± 0,087	DEHT DEHP	0,231 ± 0,045 NQ
7	TOTM	33,330 ± 0,642	DEHT DEHP	0,175 ± 0,003 0,016 ± 0,001
8	DINCH	29,414 ± 0,291	DEHT	NQ
9	ATBC	22,505 ± 0,401	ND	ND
10	DEHA	19,153 ± 0,901	ATBC DEHP	1,329 ± 0,045 0,008 ± 0,003

**Tableau 12** : Quantification des plastifiants retrouvés dans les dispositifs médicaux testés.  
Moyenne ± écart type.

ND : plastifiant non détecté

NQ : plastifiant non quantifié (la concentration est inférieure à la LQ)



**Figure 13** : Quantification des plastifiants retrouvés dans les dispositifs médicaux testés.  
L'axe vertical de gauche correspond à l'échelle des plastifiants majoritaires et l'axe de droite l'échelle des plastifiants minoritaires.

Echantillon	CLHP-DAD	CG-SM	SFC-DEDL	CLHP-DEDL	RMN	CLHP-UV	FT-IR	CG-FID
1	DEHT : 25,4%	DEHT 33,4% DEHP 0,1%	DEHT : 29,5% TOTM : 0,2%	DEHT : 29,5% TOTM : 0,2%	DEHT : 36,3%	DEHT : 21,8%	DEHT : 31,5%	DEHT : 28,0% DEHP : 2,8%
2	DINP : 37,2%	DINP 35,2% DEHP 0,03%	DINP : NQ	DINP : NQ	DINP : 32,9% DEHP : ND	DINP : 32,1% TOTM : NQ	DINP : 30,1%	DINP : 19,0% DEHA : 9,5%
3	TOTM : 29,0% DEHT : 0,2%	TOTM : 30,1% DEHP : 0,02% DEHT : 0,2%	TOTM : 31,7% DEHP : NQ	TOTM : 30,6% DEHP : NQ	TOTM : 31,7% DEHT : 0,2%	TOTM : 26,1% DEHT : 0,14%	TOTM : 33,2%	TOTM : 35,0% DEHP : 3,0% DEHT : 1,3%
4	TOTM : 30,6% DEHT : 0,2% DEHP : 0,1%	TOTM : 34,9% DEHP : 0,2% DEHT : 0,2% DEHA : 0,1%	TOTM : 40,4% DEHP : NQ	TOTM : 36,8% DEHP : NQ	TOTM : 38,4% DEHP : 0,2% DEHT : 0,2% DEHA : 0,1%	TOTM : 27,1% DEHT : 0,13%	TOTM : 34,3%	TOTM : 36,0% DEHP : 2,9% DEHA : 1,8%
5	TOTM : 30,8% DEHT : 0,1% DEHP : 0,01%	TOTM : 36,5% DEHP : 0,03% DEHT : 0,02%	TOTM : 39,7% DEHP : NQ	TOTM : 37,7% DEHP : NQ	TOTM : 38,3% DEHT : 0,1%	TOTM : 22,9% DEHT : 0,13%	TOTM : 38,2%	TOTM : 36,0% DEHP : 2,5% DEHT : 1,0% DINP : 3,0%
6	TOTM : 39,1% DEHT : 0,2% DEHP : NQ	TOTM : 38,8% DEHP : 0,03% DEHT : 0,3%	TOTM : 42,7%	TOTM : 40,0%	TOTM : 40,1% DEHT : 0,3%	TOTM : 26,5% DEHT : 0,17%	TOTM : 38,3%	TOTM : 36,0% DINP : 5,0%
7	TOTM : 33,3% DEHT : 0,2% DEHP : 0,02%	TOTM : 33,3% DEHP : 0,02% DEHT : 0,06% DINCH : 0,5%	TOTM : 38,1% DEHP : NQ	TOTM : 33,5% DEHP : NQ	TOTM : 36,0% DEHT : 0,2%	TOTM : 17,5% DEHT : 0,12%	TOTM : 35,6%	TOTM : 30,0% DEHP : 2,6% DEHT : 1,0%
8	DINCH : 29,4% DEHT : NQ	DINCH : 28,8% DEHP : 0,01% DEHT : 0,04%	DINCH : NQ	DINCH : NQ	DINCH : 32,4% DEHT : 2,6%	DINCH : NQ DEHT : 0,01%	DINCH : 35,0%	DINCH : 29,0%
9	ATBC : 22,5%	ATBC : 24,4% DEHP : 0,03%	ATBC : 22,4%	ATBC : 19,6%	ATBC : 22,6%	ATBC : 16,5%	ATBC : NQ DEHT : NQ	ATBC : 20,0% DEHA : 2,6%
10	DEHA : 19,2% ATBC : 1,3% DEHP : 0,08%	DEHA : 21,8% DEHP : 0,03% ATBC : 2,6%	DEHA : 21,4% DEHP : NQ ATBC : 1,8%	DEHA : 21,7% DEHP : NQ ATBC : 2,6%	DEHA : 22,0% ATBC : 1,6%	DEHA : NQ	DEHA : 22,8% DEHT : NQ	DEHA : 16,0% ATBC : 9,0%

**Tableau 13** : Quantification des plastifiants retrouvés dans les dispositifs médicaux testés par les autres techniques du projet ARMED (80)

NQ : plastifiant non quantifié (la concentration est inférieure à la LQ)

En rouge : les plastifiants majoritaires

En noir : les plastifiants minoritaires

## V. DISCUSSION

### 1. Méthode analytique

Cette méthode est la première méthode CLHP permettant de doser l'ensemble des plastifiants alternatifs au DEHP ainsi que ce dernier. C'est une méthode simple et rapide. Les autres techniques de CLHP n'ont actuellement pas permis de doser ces sept plastifiants simultanément (70,71). Deux méthodes CLHP-UV sont à ce jour, publiées : la méthode de Radaniel *et al.* qui n'a pas permis de doser le DEHA et le DINP, et la méthode de Lecoœur *et al.* qui n'a pas permis de doser l'ATBC, le DEHA, le DINP et le DINCH. En revanche, les méthodes développées par la CG-SM, de Bourdeaux *et al.* (68) et de Gimeno *et al.* (37), permettent de doser les sept plastifiants simultanément. Mais cette technique nécessite un appareillage complexe, qu'il n'est pas toujours possible de posséder en PUI. Une autre technique, la RMN (81), permet la détection de ces sept plastifiants. Toutefois, comme pour la CG-SM, l'achat et la maintenance de cet appareil sont extrêmement coûteux. De plus, l'utilisation de ces deux appareillages nécessite une formation du personnel beaucoup plus complexe qu'en CLHP.

L'utilisation des dérivées premières des spectres UV est une technique mathématique permettant de quantifier précisément des composés avec des paramètres de régression satisfaisants, comme ceux obtenus avec la quantification directe de signaux UV. Ainsi, les avantages décrits par Parmar *et al.* (74), dans la revue de la littérature portant sur cette utilisation en spectrophotométrie sont retrouvées en CLHP. En effet, cette utilisation a permis de séparer des pics co-élués, le DEHA et le DINP respectivement co-élués avec le DEHP et le DEHT. De plus, les pics observés sont identifiés de manière certaine puisque la dérivée première des spectres de chaque plastifiant est utilisée.

Les coefficients de corrélation sont compris entre 0,9974 pour le DEHP et 0,9997 pour le DEHT. Le coefficient de corrélation du DEHP est le plus faible. Ceci peut s'expliquer par le retravail de la longueur d'onde et par des basses concentrations.

En effet, pour être en conformité avec les réglementations en vigueur, les DMs ne contiennent plus de DEHP comme plastifiant majoritaire (sauf mention contraire clairement libellée sur les différents emballages du DM) mais peuvent tout de même en contenir comme plastifiant minoritaire sans jamais dépasser le seuil de 0,1% m/m. Nous avons donc été contraints de mettre au point le dosage du DEHP en cherchant à quantifier des concentrations très basses. Dans cette méthode analytique, le DINP est élué sous la forme de trois pics. L'aire totale des deux premiers pics majoritaires a été utilisée pour l'intégration. Le DINCH est, quant à lui, élué sous la forme d'un massif, l'aire totale du massif a été intégrée. Les coefficients de corrélation obtenus pour ces deux plastifiants sont également très satisfaisants puisqu'ils sont égaux à 0,9991 et 0,9993 respectivement.

L'utilisation de la dérivée première des spectres UV est donc une technique simple permettant de résoudre les problèmes de co-élution avec précision et spécificité. La précision est mesurée par les biais relatifs, compris dans cette méthode entre 5 et 10 %. Les biais relatifs sont plus élevés pour le DINP car il s'agit du plastifiant le plus difficile à intégrer à cause de son élution en plusieurs pics.

Cette méthode analytique permet la détection et la quantification des plastifiants majoritaires, minoritaires et les traces de plastifiants utilisés dans la fabrication des DMs. En effet, dans le cadre de la réglementation européenne (REACH), les plastifiants peuvent être présents à des concentrations inférieures à 0,1% (m/m). Les LD et LQ obtenues par cette méthode de dosage satisfont à cette recherche pour l'ensemble des sept plastifiants.

Contrairement à la méthode analytique développée par Radaniel *et al.*, chaque plastifiant est analysé à sa longueur d'onde spécifique, ce qui permet d'être plus spécifique et d'obtenir des LQ généralement plus basses ou égales à celles obtenues dans la méthode de Radaniel *et al.* : 6,3 vs 22,9 µg/mL (ATBC), 0,2 vs 0,3 µg/mL (DEHP), 13,8 vs 52,8 µg/mL (DINCH), 0,2 vs 0,2 µg/mL (TOTM), 14,8 µg/mL (DEHA) et 0,8 µg/mL (DINP), sauf pour le DEHT, pour lequel la LQ obtenue avec notre méthode est très légèrement supérieure à celle de Radaniel *et al.* 0,3 vs 0,2 µg/mL. Les plastifiants qui absorbent le moins dans l'UV, à savoir, l'ATBC, le DEHA et le DINCH présentent des LD et des LQ plus hautes que ceux qui possèdent plus de groupements chromophores dans leur structure chimique.

Les résultats émanant de la technique CG–SM de Bourdeaux *et al.* montrent des LQ plus basses que les nôtres sauf pour le TOTM (0,5 µg/mL) et le DINP (1,5 µg/mL). Cette technique permet la quantification de l'ensemble des plastifiants étudiés. La CG–SM et la CLHP–DAD sont donc deux techniques rapides pour détecter l'ensemble des plastifiants étudiés avec une bonne sensibilité.

## 2. Comparaison des résultats obtenus dans l'analyse à l'aveugle

L'analyse en aveugle des 10 échantillons a permis de tester la fiabilité de la technique et le processus de dilution à l'aveugle d'un échantillon pour valider la méthodologie. Les résultats obtenus avec d'autres techniques analytiques ont été comparés avec les résultats obtenus avec notre technique.

Toutes les méthodes détectent le même plastifiant majoritaire dans les DMs. La CG–SM et la RMN montrent des taux très proches pour tous les plastifiants tandis que la CG–FID a tendance à sous quantifier les plastifiants, particulièrement pour le DINP et l'ATBC. De plus, la CG–FID retrouve des taux de plastifiants minoritaires (DEHA à 2,8% dans l'échantillon 1 ; DEHA à 9,5% dans l'échantillon 2 ; ATBC à 9% dans l'échantillon 10) beaucoup plus élevés que dans les autres méthodes analytiques, laissant supposer un problème d'identification de certains plastifiants.

Les résultats obtenus avec notre technique ont donc été comparés aux résultats obtenus en CG–SM et en RMN (tableau 13).

Pour l'échantillon 1, le DEHT est retrouvé à 25,4% par notre technique contre 33,4% pour la CG–SM et 36,3% pour la RMN. Pour l'échantillon 2, la concentration de DINP quantifiée par notre technique (37,2%) est proche de celle quantifiée par la CG–SM (35,2%) et par la RMN (32,9%). Concernant, les échantillons 3, 4, 5, 6 et 7, qui contiennent tous du TOTM comme plastifiant majoritaire, la concentration de TOTM dosée par notre technique est très proche de celle dosée par CG–SM et RMN, sauf pour l'échantillon 4 où la concentration de TOTM est sous-quantifiée par notre technique comparée aux deux autres techniques (30,6% par notre technique, 34,9% par la CG–SM et 38,4% par la RMN). Concernant l'échantillon 8 qui contenait du DINCH, comme plastifiant majoritaire, la quantification de notre technique (29,4%) est très proche de celle retrouvée en CG–MS (28,8%) et de celle de la RMN (32,4%). La quantification de l'ATBC, contenu dans l'échantillon 9 est également très



satisfaisante (22,5%) puisque la RMN a quantifié ce plastifiant à 22,6% et la CG–SM à 24,4%.

Parmi les plastifiants principaux, le DINCH, le DINP, l'ATBC et le DEHA sont les plastifiants les plus difficiles à doser, étant quantifiés seulement par 5, 6, 7 ou 7 techniques respectivement. L'ATBC, le DEHA et le DINCH ne possédant pas de groupements chromophores, ils absorbent peu dans l'UV. Le DINP est difficile à quantifier à cause de l'élution en plusieurs pics.

Pour sept tubulures analysées, le plastifiant majoritaire était du TOTM, où nous trouvons systématiquement des traces de DEHT et DEHP. Cette contamination peut être due à la fabrication de différents DMs contenant différents plastifiants produits sur la même chaîne de production. Néanmoins, il est établi dans la littérature (37) que la production de TOTM peut conduire à des impuretés de fabrication sous forme de DEHT et de DEHP. Cela expliquerait en partie les traces de DEHP et/ou de DEHT quasi systématiquement retrouvées dans nos échantillons étudiés à l'aveugle. Cela reste compatible avec une utilisation en France, avec l'amendement prononcé (32), tant que les taux de DEHP restent inférieurs à 0,1% (m/m) et tant que le DEHP n'est encore pas totalement supprimé des DMs. Cependant, la réglementation de 2015 (31) interdisait complètement l'utilisation du DEHP dans les DMs. Or, si le DEHP est systématiquement trouvé comme plastifiant minoritaire du TOTM, l'utilisation de ce dernier sera compliquée. Dans ce cadre, la méthode analytique mise au point permettra de tester le marché des DMs avant le référencement dans un centre hospitalier et de rechercher la présence et la quantification du DEHP pour être conforme à la réglementation.

Cependant, la présence de traces de plastifiants minoritaires (DEHP et DEHT) a également été mise en évidence dans d'autres tubulures, notamment plastifiées au DINCH (correspondant à l'échantillon 8), la concentration du DEHT était inférieure à la LQ.

Les résultats de l'échantillon 10 (prototype d'une tubulure plastifiée au DEHA), considéré comme l'échantillon de référence puisque sa concentration est connue, sont bien représentatifs. La quantité annoncée (22%) correspond à la quantité de plastifiant mélangé à la poudre de PVC, mais pas à la quantité retrouvée à la fin du processus de fabrication de la tubulure. Ainsi, le taux annoncé correspond au taux de plastifiant utilisé pour la fabrication de la tubulure, non pas celle mesurée par

Raumedic® dans le produit fini. Les méthodes qui ont retrouvées un taux de DEHA très proche des 22% annoncés par le fournisseur sont la CG–SM (21,8%), la RMN (22%) et la CLHP–DEDL (21,7%). Notre technique a permis de détecter le DEHA à 19,2% tandis que la seconde technique CLHP–UV, qui n'utilise pas les spectres de la dérivée première n'a pas réussi à quantifier le DEHA.

Le prototype DEHA présente les traces d'ATBC (1,329% (m/m) ± 0,045) et de DEHP (0,008% (m/m) ± 0,003). Grâce à l'utilisation de la dérivée première des spectres UV de ces deux composés, il n'est pas possible de confondre le DEHP avec le DEHA. De plus, contrairement à d'autres techniques analytiques qui ont testé la même tubulure, nous pouvons détecter les traces de DEHP. En effet, seule la CG-SM a réussi à quantifier les deux plastifiants minoritaires dans la tubulure. La SFC–DEDL et la CLHP–DEDL a également réussi à les détecter mais ne pouvaient pas quantifier le DEHP.

La détection de traces de DEHP est toujours possible par la technique la CG-SM, technique la plus sensible des huit testées, capable de le quantifier pour des taux allant de 0,01 à 0,16% m/m. Les deux techniques utilisant une détection DEDL, la CLHP et la SFC, ne peuvent jamais le quantifier dans aucun échantillon, tout comme la seconde méthode CLHP–UV et la CG–FID. La RMN, quant à elle, peut le quantifier mais à partir de taux dépassant les 0,2% (m/m).

### 3. Comparaison des techniques de détection par chromatographie liquide

Ainsi, dans le projet ARMED, trois modes de détection de CLHP sont utilisés : l'UV monocanal, le DEDL et le DAD (notre technique).

Contrairement à la méthode CLHP-UV décrite par Lecoeur *et al.*, notre technique chromatographique permet la détection de l'ATBC et du DEHA, molécules qui absorbent faiblement dans l'UV. Cette différence est sûrement due à l'analyse à une longueur d'onde unique à 240 nm.

Toutefois, le détecteur DEDL est très peu utilisé en CLHP mais permet de détecter plus simplement les molécules n'absorbant que très peu dans l'UV. Néanmoins, cette technique décrite par Lecoeur *et al.* ne permet pas de détecter le DINCH et le

DINP, malgré l'utilisation d'un détecteur DEDL. Pour plusieurs plastifiants (le DEHP, le DEHT et le TOTM), les techniques CLHP–UV publiées présentent des LQ plus basses que notre technique : 0,06 µg/mL pour DEHP ; 0,02 µg/mL pour DEHT et 0,04 µg/mL pour TOTM. L'utilisation du détecteur DEDL couplé à la SFC permet l'obtention des LQ plus basses pour les plastifiants non aromatiques (0,8 µg/mL pour l'ATBC et 0,7 µg/mL pour le DEHA). Ainsi, le DEDL semble être très intéressant pour la quantification de ces molécules non aromatiques. Cette technique reste toutefois très peu disponible dans les pharmacies à usage intérieur et donc peu accessible, ce détecteur est en effet très coûteux.

Finalement, la méthode de CLHP–DAD est la troisième méthode « ARMED » permettant la caractérisation et la quantification précise des sept plastifiants en une seule analyse. Cette méthode utilise un appareil plus accessible en termes de coût que la CG-SM. Nos résultats démontrent que nos LQ sont suffisantes pour identifier la présence de plastifiants minoritaires dans les DMs commercialisés et les quantifier jusqu'à 0,1 % m/m en masse de matière plastique. De plus, la détection des traces de DEHP est possible avec cette technique, en adéquation avec le nouvel amendement prononcé (32) qui précise que les établissements de soins doivent privilégier les DMs contenant la plus faible teneur de DEHP.

Cette méthode pourra donc tout à fait être utilisée pour tester les DMs sur le marché français afin de s'assurer de l'absence de DEHP et de classer les DMs en fonction de leur teneur en DEHP.

De plus, dans le cadre du projet ARMED Néo, faisant suite au projet ARMED, ciblé sur l'étude des plastifiants en réanimation néonatale, cette méthode sera utilisée pour quantifier les DMs utilisés dans ce service. En effet, dans le cadre de l'étude observationnelle, une corrélation sera établie entre la composition des DMs utilisés pour le patient et les concentrations urinaires des plastifiants.

## VI. CONCLUSION

L'utilisation des spectres dérivés a permis la caractérisation des plastifiants alternatifs au DEHP et du DEHP dans les dispositifs médicaux. La comparaison des taux de plastifiants majoritaires et minoritaires retrouvés dans les DMs par différentes techniques a permis de montrer que les résultats obtenus avec cette technique étaient très proches de ceux obtenus avec les autres techniques.

Pour conclure, notre technique analytique présente tous les avantages d'une détection UV : simple, faible coût, rapide (l'analyse dure 13 minutes). Cette méthode, possède, également l'avantage d'être écologique comparée à la spectrométrie de masse qui utilise des solvants CMR. De plus, la technique CLHP-DAD est beaucoup moins onéreuse que la RMN, la CLHP-DEDL ou la CG-SM.

Dans le cadre du référencement de nouveaux dispositifs médicaux à l'hôpital, cette méthode CLHP, pourra tout à fait être utilisée pour doser les éventuels plastifiants dans les DMs et dans les éluats dans le cadre des études de migration. Les résultats obtenus permettront de s'assurer de la composition des DMs et d'être en conformité avec la réglementation en vigueur.

Cette technique sera utilisée pour la quantification de plastifiants dans les DMs utilisés en réanimation néonatale dans le cadre du futur projet ANSM, ARMED Néo.

## VII. BIBLIOGRAPHIE

1. ONG Health Care Without Harm: "Non toxic healthcare: alternatives to phtalates and bisphenol A in medical devices (2015) available from: <https://noharm-europe.org/sites/default/files/documents-files/319/HCWH%20Europe%20report%20-%20Non-Toxic%20Healthcare.pdf> (4 May 2016).
2. Scientific Committee on Emerging and Newly-Identified Health Risks (SCENIHR), Opinion on the safety of medical devices containing DEHP plasticized PVC or other plasticizers on neonate and other groups possibly at risk. European Committee, 2008. access [http://ec.europa.eu/health/archive/ph\\_risk/committees/04\\_scenihr/docs/scenihr\\_o\\_008.pdf](http://ec.europa.eu/health/archive/ph_risk/committees/04_scenihr/docs/scenihr_o_008.pdf).
3. Testai E, Hartemann P, Rastogi SC, Bernauer U, Piersma A, De Jong W, et al. The safety of medical devices containing DEHP plasticized PVC or other plasticizers on neonates and other groups possibly at risk (2015 update). Regul Toxicol Pharmacol RTP. 2016;76:209–10.
4. Ruzickova K, Cobbing M, Rossi M. Preventing Harm from Phtalates, avoiding PVC in Hospitals [Internet]. 2004 [cité 25 Nov 2012]. Disponible sur: <http://www.pehsu.org/research/hsostenible/dehp/detailsdehp.pdf>.
5. Chiellini F, Ferri M, Morelli A, Dipaola L, Latini G. Perspectives on alternatives to phthalate plasticized poly(vinyl chloride) in medical devices applications. Prog Polym Sci. 2013;38(7):1067–88.
6. Carrega M, coll. Matériaux polymères. 2007. Paris. 642 pages. (Dunod).
7. Guide pratique sur les phtalates (03/02/2010). Europharmat. Disponible sur : <http://www.euro-pharmat.com/documents/Phtalates/phtalates030210.pdf>.
8. Monographie 3.1.13. Additifs pour plastiques (additif 01) pages 388. (janvier 2008). Pharmacopée Européenne édition 6.0.
9. AuBuchon JP, Estep TN, Davey RJ. The effect of the plasticizer di-2-ethylhexyl phthalate on the survival of stored RBCs. Blood. 1988;71(2):448–52.
10. Labow RS, Card RT, Rock G. The effect of the plasticizer di(2-ethylhexyl)phthalate on red cell deformability. Blood. 1987;70(1):319–23.
11. Bernard L, Cueff R, Breyse C, Décaudin B, Sautou V. Migrability of PVC plasticizers from medical devices into a simulant of infused solutions. Int J Pharm. 2015;485(1–2):341–7.
12. Bernard L, Cueff R, Chagnon M, Abdoulouhab F, Décaudin B, Breyse C, et al. Migration of plasticizers from PVC medical devices: Development of an infusion model. Int J Pharm. 2015;494(1):136–45.

13. Marcilla A, Garcia S, Garcia-Quesada JC. Migrability of PVC plasticizers. *Polym Test*. 2008;27(2):221–33.
14. Directive 67/548/CEE du Conseil, du 27 juin 1967, concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses. Disponible sur : <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/fr/ALL/?uri=CELEX%3A31967L0548>.
15. Règlement (CE) No 1272/2008 du parlement européen et du conseil du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) no 1907/2006, disponible sur : <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:353:0001:1355:fr:PDF>.
16. Nabae K, Doi Y, Takahashi S, Ichihara T, Toda C, Ueda K, et al. Toxicity of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) and di(2-ethylhexyl)adipate (DEHA) under conditions of renal dysfunction induced with folic acid in rats: enhancement of male reproductive toxicity of DEHP is associated with an increase of the mono-derivative. *Reprod Toxicol Elmsford N*. 2006 Oct;22(3):411–7.
17. Bernard L, Décaudin B, Lecoœur M, Richard D, Bourdeaux D, Cueff R, et al. Analytical methods for the determination of DEHP plasticizer alternatives present in medical devices: A review. *Talanta*. 2014;129:39–54.
18. Messerlian C, Souter I, Gaskins AJ, Williams PL, Ford JB, Chiu Y-H, et al. Urinary phthalate metabolites and ovarian reserve among women seeking infertility care. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2016;31(1):75–83.
19. Kim SH, Cho S, Ihm HJ, Oh YS, Heo S-H, Chun S, et al. Possible Role of Phthalate in the Pathogenesis of Endometriosis: In Vitro, Animal, and Human Data. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(12):E1502–11.
20. Thomas JA, Thomas MJ. Biological effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate and other phthalic acid esters. *Crit Rev Toxicol*. 1984;13(4):283–317.
21. Habert R, Muczynski V, Lehraiki A, Moison D, Lambrot R, Levacher C, et al. Altérations environnementales du développement du testicule foetal: zoom sur les phtalates. *Andrologie*. 2011;21(1):24–33.
22. Frederiksen H, Sørensen K, Mouritsen A, Aksglaede L, Hagen CP, Petersen JH, et al. High urinary phthalate concentration associated with delayed pubarche in girls. *Int J Androl*. 2012;35(3):216–26.
23. Swan SH, Main KM, Liu F, Stewart SL, Kruse RL, Calafat AM, et al. Decrease in Anogenital Distance among Male Infants with Prenatal Phthalate Exposure. *Environ Health Perspect*. 2005;113(8):1056–61.
24. Fischer CJ, Bickle Graz M, Muehlethaler V, Palmero D, Tolsa J-F. Phthalates in the NICU: is it safe? *J Paediatr Child Health*. 2013;49(9):E413–9.

25. Green R, Hauser R, Calafat AM, Weuve J, Schettler T, Ringer S, et al. Use of di(2-ethylhexyl) phthalate-containing medical products and urinary levels of mono(2-ethylhexyl) phthalate in neonatal intensive care unit infants. *Environ Health Perspect.* 2005;113(9):1222–5.
26. Enke U, Schleussner E, Pälme C, Seyfarth L, Koch HM. Phthalate exposure in pregnant women and newborns – The urinary metabolite excretion pattern differs distinctly. *Int J Hyg Environ Health.* 2013;216(6):735–42.
27. Directive Européenne n°2005-84 du 14 décembre 2005 du Parlement européen et du Conseil modifiant pour la vingt-deuxième fois la directive 76/769/CEE du Conseil concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des États membres relatives à la limitation de la mise sur le marché et de l'emploi de certaines substances et préparations dangereuses (phtalates dans les jouets et les articles de puériculture). Disponible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT00000705968&categorieLien=id>.
28. Règlement (CE) No 1907/2006 du parlement européen et du conseil du 18 décembre 2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances (REACH), instituant une agence européenne des produits chimiques, modifiant la directive 1999/45/CE et abrogeant le règlement (CEE) no 793/93 du Conseil et le règlement (CE) no 1488/94 de la Commission ainsi que la directive 76/769/CEE du Conseil et les directives 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE et 2000/21/CE de la Commission. Disponible sur : <https://www.lne.fr/publications/reglements/1907-2006-reach.pdf>.
29. Recommandations portant sur les phtalates dans les dispositifs médicaux. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS). Mars 2009. Disponible sur : [http://ansm.sante.fr/var/ansm\\_site/storage/original/application/a71e772b5eccc88a7162758b5375e1bf.pdf](http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/a71e772b5eccc88a7162758b5375e1bf.pdf).
30. Directive 2007/47/CE du parlement européen et du conseil du 5 septembre 2007 modifiant la directive 90/385/CEE du Conseil concernant le rapprochement des législations des États membres relatives aux dispositifs médicaux implantables actifs, la directive 93/42/CEE du Conseil relative aux dispositifs médicaux et la directive 98/8/CE concernant la mise sur le marché des produits biocides. Disponible sur : <https://www.lne.fr/publications/directives/07-47.pdf>.
31. Code de la santé publique - Article L5214-1 Créé par LOI n°2012-1442 du 24 décembre 2012 - art. 3 disponible sur <https://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do?idArticle=LEGIARTI000026831620&cidTexte=LEGITEXT000006072665&dateTexte=20150115>.
32. Instruction DGS/PP3/DGOS/PF2 no 2015-224 du 17 juillet 2015 relative à l'interdiction de l'utilisation des tubulures comportant du DEHP dans les services de pédiatrie, de néonatalogie et de maternité.

33. Perinaud A, Jarrouj Souleibi C, Franck L, Gnamien S. Interdiction du DEHP dans les services de pédiatrie : applicable ou pas ? *Pharm Hosp Clin*. 2016;51(1):75–6.
34. Fischer Fumeaux CJ, Stadelmann Diaw C, Palmero D, M'Madi F, Tolsa J-F. [Phthalate exposure in the neonatal intensive care unit]. *Arch Pédiatrie Organe Off Société Fr Pédiatrie*. 2015;22(2):203–10.
35. Genay S, Luciani C, Décaudin B, Kambia N, Dine T, Azaroual N, et al. Experimental study on infusion devices containing polyvinyl chloride: to what extent are they di(2-ethylhexyl)phthalate-free? *Int J Pharm*. 2011;412(1-2):47–51.
36. Contrôle du marché des dispositifs médicaux en PVC annoncés sans DEHP. ANSM - Mai 2016. Disponible sur : [http://ansm.sante.fr/var/ansm\\_site/storage/original/application/c1c4d64cce8eaf2c5495f2073ae713c8.pdf](http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/c1c4d64cce8eaf2c5495f2073ae713c8.pdf).
37. Gimeno P, Thomas S, Bousquet C, Maggio A-F, Civade C, Brenier C, et al. Identification and quantification of 14 phthalates and 5 non-phthalate plasticizers in PVC medical devices by GC–MS. *J Chromatogr B*. 2014;949–950:99–108.
38. Bagel-Boithias S, Sautou-Miranda V, Bourdeaux D, Tramier V, Boyer A, Chopineau J. Leaching of diethylhexyl phthalate from multilayer tubing into etoposide infusion solutions. *Am J Health-Syst Pharm AJHP Off J Am Soc Health-Syst Pharm*. 2005 ;62(2):182–8.
39. Bourdeaux D, Sautou-Miranda V, Bagel-Boithias S, Boyer A, Chopineau J. Analysis by liquid chromatography and infrared spectrometry of di(2-ethylhexyl)phthalate released by multilayer infusion tubing. *J Pharm Biomed Anal*. 2004;35(1):57–64.
40. Koch HM, Preuss R, Angerer J. Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP): human metabolism and internal exposure-- an update and latest results. *Int J Androl*. 2006;29(1):155–65; discussion 181–5.
41. Silva MJ, Samandar E, Ye X, Calafat AM. In vitro metabolites of di-2-ethylhexyl adipate (DEHA) as biomarkers of exposure in human biomonitoring applications. *Chem Res Toxicol*. 2013;26(10):1498–502.
42. Barber ED, Fox JA, Giordano CJ. Hydrolysis, absorption and metabolism of di(2-ethylhexyl) terephthalate in the rat. *Xenobiotica Fate Foreign Compd Biol Syst*. 1994;24(5):441–50.
43. Fromme H, Schütze A, Lahrz T, Kraft M, Fembacher L, Siewering S, et al. Non-phthalate plasticizers in German daycare centers and human biomonitoring of DINCH metabolites in children attending the centers (LUPE 3). *Int J Hyg Environ Health*. 2016;219(1):33–9.
44. Schütze A, Pälme C, Angerer J, Weiss T, Brüning T, Koch HM. Quantification of biomarkers of environmental exposure to di(isononyl)cyclohexane-1,2-dicarboxylate (DINCH) in urine via HPLC-MS/MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*.



2012;895-896:123–30.

45. Völkel W, Kiranoglu M, Dettbarn G, John A, Jessel S, Seidel A, et al. Urinary toxicokinetics of di-(isononyl)-cyclohexane-1,2-dicarboxylate (DINCH®) in humans following single oral administration. *Toxicol Lett.* 2016;248:16–24.

46. M.A. Babich, Review of Exposure and Toxicity Data for Phthalate Substitutes, 2010, accessed from : <https://www.cpsc.gov/PageFiles/126546/phthalsub.pdf>.

47. Takeshita A, Igarashi-Migitaka J, Nishiyama K, Takahashi H, Takeuchi Y, Koibuchi N. Acetyl tributyl citrate, the most widely used phthalate substitute plasticizer, induces cytochrome p450 3a through steroid and xenobiotic receptor. *Toxicol Sci Off J Soc Toxicol.* 2011;123(2):460–70.

48. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'évaluation des substances inscrites au programme de travail 2015 de l'Agence dans le cadre de la Stratégie nationale sur les perturbateurs endocriniens (SNPE) : l'ATBC (acétylcitrate de tributyle (n°CAS 77-90-7), le TBC (citrate de tributyle, n° CAS 77-94- 1), le BHT (hydroxytoluène butylé, n°CAS 128-37-0), l'acide téréphtalique (n° CAS 100-21-0), le méthyl salicylate (n°CAS 119-36-8) et l'iprodione (n° CAS 36734-19-7)- le 8 avril 2016. Disponible sur : <https://www.anses.fr/fr/system/files/REACH2016RE0001.pdf>.

49. Ito Y, Nakamura T, Yanagiba Y, Ramdhan DH, Yamagishi N, Naito H, et al. Plasticizers May Activate Human Hepatic Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\alpha$  Less Than That of a Mouse but May Activate Constitutive Androstane Receptor in Liver. *PPAR Res [Internet].* 2012 [cité 10 Mai 2016];2012. Disponible sur : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3388330/>

50. Deyo JA. Carcinogenicity and chronic toxicity of di-2-ethylhexyl terephthalate (DEHT) following a 2-year dietary exposure in Fischer 344 rats. *Food Chem Toxicol Int J Publ Br Ind Biol Res Assoc.* 2008;46(3):990–1005.

51. Faber WD, Deyo JA, Stump DG, Navarro L, Ruble K, Knapp J. Developmental toxicity and uterotrophic studies with di-2-ethylhexyl terephthalate. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2007;80(5):396–405.

52. Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) on a request related to a 12 th list of substances for food contact materials available from : [http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific\\_output/files/main\\_documents/395.pdf](http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/395.pdf).

53. Silva MJ, Jia T, Samandar E, Preau JL, Calafat AM. Environmental exposure to the plasticizer 1,2-cyclohexane dicarboxylic acid, diisononyl ester (DINCH) in U.S. adults (2000-2012). *Environ Res.* 2013;126:159–63.

54. David RM, White RD, Larson MJ, Herman JK, Otter R. Toxicity of Hexamoll® DINCH® following intravenous administration. *Toxicol Lett.* 2015;238(2):100–9.

55. Chen X-H, Ma L, Hu Y-X, Wang D-X, Fang L, Li X-L, et al. Transcriptome profiling and pathway analysis of hepatotoxicity induced by tris (2-ethylhexyl) trimellitate (TOTM) in mice. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2016;41:62–71.
56. Martis L, Freid E, Woods E. Tissue distribution and excretion of tri-(2-ethylhexyl)trimellitate in rats. *J Toxicol Environ Health*. 1987;20(4):357–66.
57. Allwood MC, Martin H. The extraction of diethylhexylphthalate (DEHP) from polyvinyl chloride components of intravenous infusion containers and administration sets by paclitaxel injection. *Int J Pharm*. 1996;127(1):65–71.
58. Waugh WN, Trissel LA, Stella VJ. Stability, compatibility, and plasticizer extraction of taxol (NSC-125973) injection diluted in infusion solutions and stored in various containers. *Am J Hosp Pharm*. 1991;48(7):1520–4.
59. Trissel LA, Xu QA, Baker M. Drug compatibility with new polyolefin infusion solution containers. *Am J Health-Syst Pharm AJHP Off J Am Soc Health-Syst Pharm*. 2006;63(23):2379–82.
60. Demoré B, Vigneron J, Perrin A, Hoffman MA, Hoffman M. Leaching of diethylhexyl phthalate from polyvinyl chloride bags into intravenous etoposide solution. *J Clin Pharm Ther*. 2002;27(2):139–42.
61. Kambia K, Dine T, Gressier B, Bah S, Germe A-F, Luyckx M, et al. Evaluation of childhood exposure to di(2-ethylhexyl) phthalate from perfusion kits during long-term parenteral nutrition. *Int J Pharm*. 2003;262(1-2):83–91.
62. Rettberg H von, Hannman T, Subotic U, Brade J, Schaible T, Waag KL, et al. Use of Di(2-Ethylhexyl)Phthalate-Containing Infusion Systems Increases the Risk for Cholestasis. *Pediatrics*. 2009;124(2):710–6.
63. Kambia K, Dine T, Azar R, Gressier B, Luyckx M, Brunet C. Comparative study of the leachability of di(2-ethylhexyl) phthalate and tri(2-ethylhexyl) trimellitate from haemodialysis tubing. *Int J Pharm*. 2001;229(1–2):139–46.
64. Eckert E, Münch F, Göen T, Purbojo A, Müller J, Cesnjevar R. Comparative study on the migration of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) and tri-2-ethylhexyl trimellitate (TOTM) into blood from PVC tubing material of a heart-lung machine. *Chemosphere*. 2016;145:10–6.
65. Projet ARMED. Disponible sur :  
[http://ansm.sante.fr/var/ansm\\_site/storage/original/application/7faf39acfe694b071d8e815f1d550e92.pdf](http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/7faf39acfe694b071d8e815f1d550e92.pdf).
66. Koch HM, Müller J, Angerer J. Determination of secondary, oxidised di-isobutylphthalate (DINP) metabolites in human urine representative for the exposure to commercial DINP plasticizers. *J Chromatogr B*. 2007;847(2):114–25.
67. Massard C, Bernard L, Cueff R, Raspal V, Feschet-Chassot E, Sibaud Y, et al. Photopolymerizable hybrid sol gel coating as a barrier against plasticizer release.

Prog Org Coat. 2012 Sep;75(1–2):116–23.

68. Bourdeaux D, Yessaad M, Chennell P, Larbre V, Eljezi T, Bernard L, et al. Analysis of PVC plasticizers in medical devices and infused solutions by GC–MS. *J Pharm Biomed Anal.* 2016;118:206–13.

69. Bernard L, Cueff R, Bourdeaux D, Breysse C, Sautou V, Armed Study Group. Analysis of plasticizers in poly(vinyl chloride) medical devices for infusion and artificial nutrition: comparison and optimization of the extraction procedures, a pre-migration test step. *Anal Bioanal Chem.* 2015;407(6):1651–9.

70. Radaniel T, Genay S, Simon N, Feutry F, Quagliozi F, Barthélémy C, et al. Quantification of five plasticizers used in PVC tubing through high performance liquid chromatographic-UV detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2014;965:158–63.

71. Lecoœur M, Décaudin B, Guillotin Y, Sautou V, Vaccher C. Comparison of high-performance liquid chromatography and supercritical fluid chromatography using evaporative light scattering detection for the determination of plasticizers in medical devices. *J Chromatogr A.* 2015;1417:104–15.

72. Vaccher C, Décaudin B, Sautou V, Lecoœur M. Analysis of non-phthalates plasticizers on porous graphitic carbon by supercritical fluid chromatography using evaporative light scattering detection. *J Chromatogr A.* 2014;1359:277–86.

73. Wang Q, Storm BK. Separation and analysis of low molecular weight plasticizers in poly(vinyl chloride) tubes. *Polym Test.* 2005;24(3):290–300.

74. Parmar A, Sharma S. Derivative UV-vis absorption spectra as an invigorated spectrophotometric method for spectral resolution and quantitative analysis: Theoretical aspects and analytical applications: A review. *TrAC Trends Anal Chem.* 2016;77:44–53.

75. Ansari M, Kazemipour M, Khosravi F, Baradaran M. A comparative study of first-derivative spectrophotometry and high-performance liquid chromatography applied to the determination of losartan potassium in tablets. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 2004;52(10):1166–70.

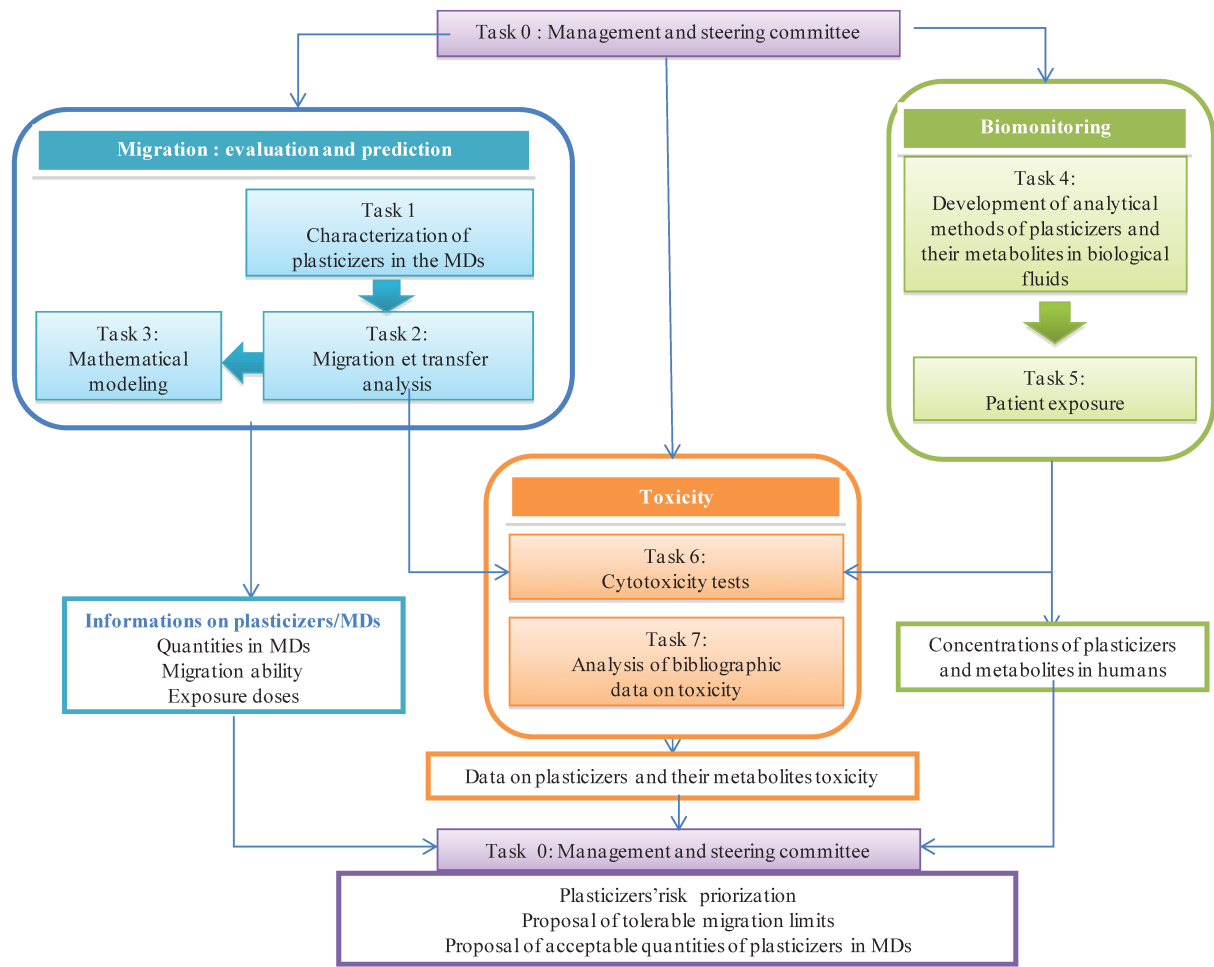
76. Uchiyama K, Kondo M, Yokochi R, Takeuchi Y, Yamamoto A, Inoue Y. Derivative spectrum chromatographic method for the determination of trimethoprim in honey samples using an on-line solid-phase extraction technique. *J Sep Sci.* 2011;34(13):1525–30.

77. Hoang VD, Hue NT, Tho NH, Nguyen HMT. Simultaneous determination of chloramphenicol, dexamethasone and naphazoline in ternary and quaternary mixtures by RP-HPLC, derivative and wavelet transforms of UV ratio spectra. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2015;139:20–7.

78. Hubert P, Nguyen-Huu J-J, Boulanger B, Chapuzet E, Chiap P, Cohen N, et al. Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures: A

- SFSTP proposal—part I. *J Pharm Biomed Anal.* 2004 Nov 15;36(3):579–86.
79. Hubert P, Nguyen-Huu J-J, Boulanger B, Chapuzet E, Cohen N, Compagnon P-A, et al. Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures. A SFSTP proposal--part III. *J Pharm Biomed Anal.* 2007;45(1):82–96.
80. Analysis of plasticizers in PVC medical devices: comparison of the performances of eight analytical techniques L. Bernard, D. Bourdeaux, B. Pereira, R. Cueff, N. Azaroual, C. Barthélémy, C. Breysse, R. Cueff, T. Dine, F. Feutry, S. Genay, N. Kambia, M. Lecoeur, M. Masse, P. Odou, T. Radaniel, N. Simon, C. Vaccher, C. Verlhac, M. Yessad, B. Décaudin, V. Sautou for the ARMED study group. *Soumise à Talanta* (Mai 2016).
81. Determination and quantification of seven plasticizers in medical devices by nuclear magnetic resonance spectroscopy. S. Genay, F. Feutry, M. Masse, C. Barthélémy, V. Sautou, P. Odou, B. Décaudin, N. Azaroual, for Armed Study Group. *Soumise à Analytical and Bioanalytical Chemistry.* (Juin 2016).

VIII. ANNEXE : Les différents axes du projet ARMED\_ (65)



## Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 – 59006 LILLE Cedex  
Tél. 03.20.96.40.40 – Fax 03.20.95.90.09

### DECISION D'AUTORISATION DE SOUTENANCE

Le Doyen de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques  
Vu le Décret n° 2012-172 du 03 février 2012 modifié relatif aux études spécialisées du troisième cycle de Pharmacie  
Vu la décision du Président de l'Université en date du 14 mai 2012 relative aux délégations de signature :

DECIDE

Article 1er : **Madame Morgane MASSE**

Est autorisé(e) à soutenir son mémoire en vue de l'obtention du D.E.S. de PHARMACIE option PHARMACIE HOSPITALIERE – PRATIQUE ET RECHERCHE sur le sujet suivant :

OPTIMISATION D'UNE METHODE DE DETECTION ET QUANTIFICATION DES PLASTIFIANTS.  
APPLICATION DU CONCEPT DE LA DERIVEE PREMIERE.

Article 2 : Ce mémoire peut tenir lieu de thèse en vue de l'obtention du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie.

Article 3 : La soutenance aura lieu le **Vendredi 30 Septembre 2016 à 14h00 Amphi Curie**

Article 4 : Le jury est composé ainsi qu'il suit :

Président :

**Monsieur le Professeur Bertrand DECAUDIN**  
Praticien Hospitalier, CHRU de Lille  
Professeur des Universités, Faculté de Pharmacie de Lille

Assesseurs :

**Monsieur le Professeur Jean Marc CHILLON**  
Praticien Hospitalier, CHU d'Amiens  
Professeur des Universités, Faculté de Pharmacie d'Amiens

**Monsieur Christophe BERNERON**  
Praticien Hospitalier, CHRU de Lille

**Madame Stéphanie GENAY**  
Maître de Conférences, Patricien attaché, CHRU de Lille

Lille, le 21 juillet 2016  
Le Doyen  
D. CUNY

Université de Lille 2  
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES DE LILLE  
**MEMOIRE de DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES**  
**(tenant lieu de Thèse en vue du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie)**  
Année Universitaire 2015/2016

**Nom :** MASSE  
**Prénom :** Morgane

**Titre du mémoire / thèse :**

Optimisation d'une méthode de détection et de quantification des plastifiants en chromatographie liquide haute performance. Application du concept de la dérivée première des spectres UV.

**Mots-clés :** CLHP-UV ; Dérivée première des spectres UV ; Dispositifs médicaux ; Plastifiants ; DEHP ; Polychlorure de vinyle

---

**Résumé :**

Suite aux récentes recommandations, le di-2-ethylhexyl phtalate (DEHP) est remplacé par des plastifiants alternatifs dans la fabrication des dispositifs médicaux (DMs). Ces plastifiants alternatifs sont l'acétyl tri-n-butyl citrate (ATBC), le bis 2-ethylhexyl adipate (DEHA), le dioctyl téréphtalate (DEHT), le di-isononylphtalate (DINP), le diisononylcyclohexane-1,2-dicarboxylate (DINCH) et le trioctyltrimellitate (TOTM). Des méthodes analytiques de détection et de quantification des plastifiants dans les DMs sont développées pour permettre des études d'identification, de toxicité et de migration. Une analyse CLHP-UV par Radaniel *et al.* a précédemment été développée pour caractériser quatre d'entre eux. Cependant, deux composés étaient systématiquement co-élués : le DEHP avec le DEHA et le DEHT avec le DINP. Grâce à l'utilisation de la dérivée première des spectres UV, la quantification du DEHA et du DINP a été obtenue. De plus, pour chaque plastifiant, la longueur d'onde correspondant à l'absorbance maximale a été choisie pour être aussi spécifique que possible. La quantification des plastifiants est comprise entre 0,3 à 750 µg/mL selon le plastifiant. Les gammes de plastifiants ont été validées par l'ANOVA. Notre méthode a été validée selon les paramètres suivants : spécificité, linéarité, les limites de détection et quantification. Les biais relatifs étaient inférieurs à 5 % pour l'ATBC, le DEHP, le DEHA et le DINCH et inférieur à 10 % pour le DEHT, le DINP et le TOTM. La méthode développée a alors été utilisée pour déterminer la composition des plastifiants dans plusieurs DMs commercialisés. Les plastifiants majeurs ont été quantifiés de 19 à 40 % m/m, des traces de DEHT ont été trouvées dans six DMs et du DEHP dans cinq DMs. Les résultats ont été comparés à ceux obtenus par d'autres techniques analytiques, permettant de valider la fiabilité de la méthode.

**Directeur de mémoire :**

Dr. Stéphanie GENAY, MCF - praticien attaché, Faculté de Pharmacie – CHRU Lille

**Membres du jury :**

**Président :** Pr. Bertrand DÉCAUDIN, PU-PH, Faculté de Pharmacie – CHRU Lille

**Assesseurs :**

Pr. Jean-Marc CHILLON, PU-PH, Faculté de Pharmacie – CHU Amiens

Dr. Christophe BERNERON, PH, Institut de Pharmacie – CHRU Lille

