



HAL
open science

Etudes des interactions contenu-contenant avec le polychlorure de vinyle et développement de méthodes de prévention de ces interactions

Morgane Masse

► **To cite this version:**

Morgane Masse. Etudes des interactions contenu-contenant avec le polychlorure de vinyle et développement de méthodes de prévention de ces interactions. Médecine humaine et pathologie. Université de Lille, 2018. Français. NNT : 2018LILUS044 . tel-02875204

HAL Id: tel-02875204

<https://theses.hal.science/tel-02875204>

Submitted on 19 Jun 2020

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

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

Université de Lille

École Doctorale Biologie Santé de Lille

2018

Thèse

Présentée pour l'obtention du grade de
Docteur de l'Université de Lille

Spécialité

Pharmacie en Sciences du Médicament et des autres Produits de
Santé

Par Morgane MASSE

ETUDES DES INTERACTIONS CONTENU – CONTENANT AVEC LE
POLYCHLORURE DE VINYLE ET DEVELOPPEMENT DE METHODES DE
PREVENTION DE CES INTERACTIONS

Soutenue publiquement le 21 novembre 2018

Membres du jury :

Directeurs de thèse : Mme le Docteur BARTHELEMY Christine
M. le Docteur BLANCHEMAIN Nicolas

Rapporteurs : M. le Professeur DUPUIS Antoine
Mme le Docteur PONCIN-EPAILLARD Fabienne

Examineurs : M. le Professeur ODOU Pascal
Mme le Professeur SAUTOU Valérie

Invités : Mme le Professeur JIMENEZ Maude
Mme le Docteur GENAY Stéphanie

«Il faut toujours viser la lune, car même en cas d'échec
on atterrit dans les étoiles»
Oscar Wilde

Remerciements

J'exprime toute ma gratitude :

Au Docteur Fabienne PONCIN-EPAILLARD et au Professeur Antoine DUPUIS de l'intérêt manifesté à l'égard de ce travail en s'engageant à être rapporteur. Soyez assurés de ma gratitude et de mon profond respect.

Au Professeur Valérie SAUTOU d'avoir accepté de faire partie de mon jury et de m'avoir permis de faire partie de ces deux belles aventures que sont Armed et Armed Neo. Veuillez recevoir le témoignage de mes respectueuses considérations.

Au Professeur Pascal ODOU d'avoir accepté de relire ce mémoire et de faire partie de mon jury. Je vous remercie pour tous vos conseils et votre soutien durant cette thèse et mes années d'internat. Soyez assuré de ma gratitude et de mon profond respect.

Au Docteur Christine BARTHELEMY d'avoir été ma directrice de thèse, pour votre soutien et toute la bienveillance que vous avez eu à mon égard tout au long de ce travail. Je vous remercie pour votre gentillesse, votre patience, vos conseils et vos très nombreuses relectures. Soyez assurée de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Au Docteur Nicolas BLANCHEMAIN d'avoir été mon directeur de thèse. Merci d'avoir toujours été disponible pour moi, de m'avoir appris de nombreuses notions sur les polymères et d'avoir fabriqué tant de plaques et films de PVC ! Soyez assuré de ma reconnaissance et de mes sincères remerciements.

Au Professeur Maude JIMENEZ d'avoir accepté d'encadrer ce travail, et de m'avoir accompagnée tout au long avec disponibilité et enthousiasme. Je te remercie pour tous les conseils et notions que tu m'as apprises sur le plasma et sur les techniques de caractérisations de surface.

Au Docteur Stéphanie GENAY de m'avoir conseillée et guidée avec patience dans ce travail. Merci pour tout le temps passé à réparer Baby Mole, d'avoir toujours été là pour moi et de toujours trouver les mots justes en toutes circonstances.

Au Professeur Bertrand DECAUDIN, pour tous vos conseils et votre aide prodigués pendant mon internat. Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Je remercie toutes les personnes du laboratoire de Galénique : Nicolas Simon, Damien Lannoy, Natacha, Nicole et Pauline. Ainsi que tous les étudiants qui ont travaillé sur le sujet, en particulier Clara et Alice. Je remercie également le Docteur Laurence Goossens pour son aide avec la FT-IR.

Je tiens également à remercier tous les membres de l'équipe U1008 et en particulier Cherry pour son aide dans l'étude de la cytotoxicité et Mickaël pour tous les dépannages de flacons, produits... ainsi que pour notre belle collaboration sur l'insuline ! Je remercie également Sawsen et Sévérine Bellayer pour leur aide avec le goniomètre et la microscopie électronique à balayage.

Je remercie mes amis, Julie the best of the best, Maxime, Héloïse, Sarah, Fabienne, Sandrine qui furent présents à mes côtés lorsque j'en avais besoin.

Les mots les plus simples étant les plus forts, j'adresse toute mon affection et mes remerciements à mes parents, mes sœurs, mon frère, ma belle-sœur, mes beaux-frères, Anthony et nos deux fils, Rafael et Noah. Leur soutien, leur confiance, leur tendresse, leur amour me portent et me guident tous les jours.

Table des matières

LISTE DES ABREVIATIONS	8
LISTE DES FIGURES.....	10
LISTE DES TABLEUX	13
INTRODUCTION	15
REVUE DE LA LITTERATURE.....	18
I. LA PERFUSION.....	19
1. LES DIFFERENTS MODES DE PERFUSION	19
2. LES MATERIAUX DES DISPOSITIFS MEDICAUX DE PERFUSION	23
A. POLYMERES UTILISES DANS LES DMS DE PERFUSIONS	23
B. LE POLYCHLORURE DE VINYLE	23
i. Structure du polychlorure de vinyle	24
ii. Propriétés du polychlorure de vinyle.....	24
iii. Les plastifiants du PVC	26
C. DES ALTERNATIVES AU PVC ?	38
i. Le polyéthylène	39
ii. Le co-extrudé et les multicouches	40
iii. Le polyuréthane.....	42
iv. Le silicone	42
II. LES INTERACTIONS CONTENU-CONTENANT	43
1. LES PHENOMENES DE MIGRATION DU CONTENU VERS LE CONTENANT	46
A. GENERALITES	46
B. INTERACTIONS ENTRE LES MATERIAUX ET L'INSULINE	47
C. INTERACTIONS ENTRE LES MATERIAUX ET LE DIAZEPAM	54
2. LES PHENOMENES DE MIGRATION DU CONTENANT VERS LE CONTENU	56
A. DESORPTION.....	56
B. PERMEATION	60
III. FONCTIONNALISATION DES DISPOSITIFS MEDICAUX.....	61
1. LIMITER LA MIGRATION DES PLASTIFIANTS.....	61
A. LA RETICULATION	62
i. Radiations ultra-violettes	62
ii. Le plasma	62
B. LE GREFFAGE	71
C. LE REVETEMENT.....	72
2. LIMITER LA SORPTION DES PRINCIPES ACTIFS.....	79
IV. CONCLUSION ET OBJECTIFS DE LA THESE	80

PARTIE EXPERIMENTALE..... 83

I. SORPTION DE L'INSULINE ET DE SES CONSERVATEURS AVEC LE POLYCHLORURE DE VINYLE.... 84

1. MATERIELS ET METHODES.....	84
A. PRODUITS	84
B. METHODE ANALYTIQUE	86
i. Conditions chromatographiques	86
ii. Méthode de validation.....	86
C. ÉTUDE DE LA PERFUSION EN CONTINU SUR 24 HEURES.....	87
i. Préparation des échantillons d'insuline.....	87
ii. Matériaux des prolongateurs de perfusion	88
D. EXPRESSION DES RESULTATS	89
E. ANALYSE DE LA MORPHOLOGIE DE LA SURFACE.....	90
2. RESULTATS	90
A. VALIDATION DES GAMMES DE DOSAGE.....	90
B. POURCENTAGES D'INSULINE ET DE CONSERVATEURS RECUEILLIS PENDANT LES 24 HEURES DE PERFUSION.....	91
i. Umuline rapide®	91
ii. Novorapid®	93
C. QUANTITES CUMULEES SUR LES HUIT PREMIERES HEURES DE PERFUSION.....	95
i. Umuline rapide®	95
ii. Novorapid®	96
D. QUANTITES RECUEILLIES PENDANT LA 24 ^{EME} HEURE DE PERFUSION	97
i. Umuline rapide®	97
ii. Novorapid®	98
E. COMPARAISON DE LA SORPTION DES INSULINES HUMAINE ET ASPARTE AVEC LES DIFFERENTS MATERIAUX.....	99
F. COMPARAISON DE LA SORPTION DU METACRESOL PRESENT DANS LES 2 FORMULATIONS D'INSULINE AVEC LES DIFFERENTS MATERIAUX.....	102
G. ANALYSE DE LA MORPHOLOGIE DE LA SURFACE	104
3. DISCUSSION / CONCLUSION	106

II. ÉVALUATION ET DOSAGE DES PLASTIFIANTS DANS LES DISPOSITIFS MEDICAUX..... 112

1. INTRODUCTION	112
2. MATERIELS ET METHODES.....	113
A. SOLVANTS ET MATERIELS	113
B. PREPARATION DES SOLUTIONS MERES ET FILLES.....	113
C. METHODE ANALYTIQUE	114
D. TRAITEMENT DU SIGNAL	115
E. VALIDATION DE LA METHODE ANALYTIQUE	116
F. METHODE D'EXTRACTION.....	117
G. ÉCHANTILLONS DE DISPOSITIFS MEDICAUX ANALYSES A L'AVEUGLE	118
3. RESULTATS	120
A. DEVELOPPEMENT DE LA METHODE DE DOSAGE	120
B. VALIDATION DE LA METHODE DE DOSAGE	125
C. ÉCHANTILLONS DE DISPOSITIFS MEDICAUX ANALYSES A L'AVEUGLE	127
4. DISCUSSION.....	130
A. METHODE ANALYTIQUE.....	130
B. COMPARAISON DES RESULTATS OBTENUS DANS L'ANALYSE A L'AVEUGLE.....	132
C. COMPARAISON DES TECHNIQUES DE DETECTION PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE	134
5. CONCLUSION	136

III.	FONCTIONNALISATION DES DISPOSITIFS MEDICAUX.....	137
1.	INTRODUCTION	137
2.	MATERIELS ET METHODES.....	139
A.	PRODUITS ET CONSOMMABLES UTILISES.....	139
B.	PREPARATION DES DISQUES DE PVC PLASTIFIE AU DINCH ET AU TOTM	140
C.	FONCTIONNALISATION DU PVC.....	141
i.	Traitement par du plasma froid basse pression	141
ii.	Revêtement par de la polydopamine	142
iii.	Réticulation	142
D.	CARACTERISATIONS PHYSICO-CHIMIQUES DU PVC.....	143
i.	Analyse thermogravimétrique.....	143
ii.	Calorimétrie différentielle à balayage	144
iii.	Angle de contact.....	144
iv.	Spectrométrie Infrarouge à transformée de Fourier	145
v.	Microscopie électronique à balayage	145
vi.	Cytotoxicité	145
E.	ÉTUDE DE LA SORPTION DU DIAZEPAM	146
i.	Validation de la gamme	146
ii.	Étude de sorption	146
F.	EXTRACTION DES PLASTIFIANTS.....	147
G.	ÉTUDE DE LA MIGRATION DES PLASTIFIANTS	149
i.	Validation de la gamme	149
ii.	Migration des plastifiants	149
3.	RESULTATS ET DISCUSSION.....	150
A.	CARACTERISATIONS PHYSICO-CHIMIQUES	151
i.	Analyses thermogravimétriques.....	151
ii.	Calorimétrie différentielle à balayage	152
iii.	Angle de contact.....	154
iv.	Analyses Infra-rouge	159
v.	Microscopie électronique à balayage	164
vi.	Cytotoxicité	165
B.	SORPTION DU DIAZEPAM	167
i.	TOTM.....	167
ii.	DINCH.....	171
C.	EXTRACTION DES PLASTIFIANTS.....	176
D.	MIGRATION DES PLASTIFIANTS	180
i.	TOTM.....	181
ii.	DINCH.....	182
4.	CONCLUSION	185
	CONCLUSION GENERALE	188
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	190
	ANNEXES	205
	PUBLICATIONS ET TRAVAUX PERSONNELS ISSUS DE LA THESE.....	214

Liste des abréviations

ACN :	Acétonitrile
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 :	Évaluation et gestion des risques liés aux dispositifs médicaux en polychlorure de vinyle plastifié (<i>Assessment and Risk Management of Medical Devices in plasticized polyvinylchloride</i>)
ATBC :	Acetyl tributyl citrate
ATG :	Analyse thermogravimétrique
BBP :	Benzyl butyl phtalate
BR :	Biais relatifs
CCV :	Chirurgie cardiovasculaire
CEC :	Circulation extra-corporelle
CG :	Chromatographie gazeuse
CG-SM :	Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
CHU :	Centre hospitalier universitaire
CL-SM :	Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse
CLHP :	Chromatographie liquide haute performance
CMR :	Cancérogène Mutagène ou toxique pour la Reproduction
CQ :	Contrôles de qualité
CVD :	Dépôt chimique en phase vapeur (<i>chemical vapor deposition</i>)
DAD :	Détecteur à barrette de diodes
DBP :	Di(butyl) phtalate
DEDL :	Détecteur évaporatif à diffusion de lumière
DEHA :	Di-2-ethylhexyl adipate
DEHP :	Di-2-ethylhexyl phtalate
DEHT :	Di-2-ethylhexyl téréphtalate
DEP :	Di(ethyl) phtalate
DINCH :	Di-isononyl-1,2-cyclohexane-dicarboxylate
DINP :	Diisononyl phtalate
DM :	Dispositif médical
DMs :	Dispositifs médicaux
DNIS :	Dinitrate d'isosorbide
DSC :	Calorimétrie différentielle à balayage (<i>Differential Scanning Calorimetry</i>)
DZP :	Diazépam
ECMO :	Oxygénation par Membrane Extra-Corporelle (<i>ExtraCorporeal Membrane Oxygenation</i>)
EVA :	Ethylène acétate de vinyle
FID :	Détecteur à ionisation de flamme
FT-IR :	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (<i>Fourier Transform InfraRed spectroscopy</i>)
ICH :	Conseil International pour l'Harmonisation des Exigences Techniques pour les Produits Pharmaceutiques à Usage Humain (<i>International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for human use</i>)

LD :	Limite de détection
LQ :	Limite de quantification
m/m :	Masse/masse
MEB :	Microscopie électronique à balayage
MEHA :	Mono-(2-ethylhexyl) adipate
MEHT :	Monoethylhexyle téréphtalate
MINCH :	Cyclohexane-1,2-dicarboxylic mono isononyl ester
MINP :	Monoisononylphtalate
NP :	Nutrition parentérale
NPH :	Protamine neutre Hagedorn
NT :	Non traité
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
PA :	Principe actif
PDA :	Polydopamine
PE :	Polyéthylène
PE/PVC :	Co-extrudé (PE/PVC)
PET :	Polyéthylène téréphtalate
PSE :	Pousse-seringues électriques
PTFE :	PolyTétraFluoroEthylène, Téflon
PUI :	Pharmacie à usage intérieur
PUR :	Polyuréthane
PVC :	Polychlorure de vinyle
PVDF :	Poly (fluorure de vinylidène)
R :	Recuit
REACH :	enRegistrement, Evaluation et Autorisation des produits CHimiques (<i>Registration, Evaluation, Authorization and restriction of CHemicals</i>)
RMN :	Résonance magnétique nucléaire
SCCM :	<i>Standard Cubic Centimeters per Minute</i>
SCENIHR :	Comité scientifique des risques sanitaires émergents et nouveaux (<i>Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks</i>)
SFC :	Chromatographie en mode supercritique (<i>supercritical fluid chromatography</i>)
SFG :	Spectroscopie par génération de fréquence somme visible-infrarouge (<i>sum-frequency generation</i>)
SFPC :	Société Française de Pharmacie Clinique
SFSTP :	Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques
Sol-gel :	Solution-gélification
SSI :	Sérum salé isotonique (NaCl 0,9%)
SV :	Standards de validation
Tg :	Température de transition vitreuse (<i>glass temperature</i>)
THF :	Tétrahydrofurane
TOTM :	Trioctyl trimellitate
Tr :	Temps de rétention
UFPLC :	Chromatographie liquide ultra rapide (<i>Ultra Fast Pressure Liquid chromatography</i>)
UV :	Ultraviolets
XPS :	Spectrométrie photoélectronique (<i>X-ray photoelectron spectroscopy</i>)

Liste des figures

FIGURE 1 : SCHEMATISATION DES LIGNES DE PERFUSION D'APRES LES BONNES PRATIQUES DE PERFUSION : « BON USAGE DU PERFUSEUR PAR GRAVITE ».....	20
FIGURE 2 : POUSSE-SERINGUE ELECTRIQUE (FRESENIUS VIAL®).....	21
FIGURE 3 : POMPE VOLUMETRIQUE ET TUBULURE DE PERFUSION D'APRES LE « SOCLE DE CONNAISSANCES SUR LA PERFUSION EN ANESTHESIE REANIMATION ».....	21
FIGURE 4 : COMPOSITION ET DESCRIPTION D'UN PERFUSEUR PAR GRAVITE AVEC UN REGLAGE DE DEBIT PAR UN CLAMP A ROULETTE D'APRES LE « SOCLE DE CONNAISSANCES SUR LA PERFUSION EN ANESTHESIE REANIMATION »	22
FIGURE 5 : ROBINET 3 VOIES (A), RAMPE DE 3 ROBINETS (B), VALVE BIDIRECTIONNELLE (C) ET FILTRES ANTI PARTICULAIRES (D).....	23
FIGURE 6 : STRUCTURE DU POLYCHLORURE DE VINYLE.....	24
FIGURE 7 : PRECIPITE VISIBLE OBSERVE A LA SORTIE DU ROBINET A TROIS VOIES DE LA LIGNE DE PERFUSION INTRAVEINEUSE EN RAISON D'UNE INCOMPATIBILITE MEDICAMENTEUSE ENTRE DU MIDAZOLAM ET DU FUROSEMIDE.....	25
FIGURE 8 : ILLUSTRATION DES INTERACTIONS CONTENU-CONTENANT AVEC LE POLYCHLORURE DE VINYLE, SORPTION DES PRINCIPES ACTIFS (A) ET MIGRATION DES PLASTIFIANTS (B).....	26
FIGURE 9 : STRUCTURE GENERALE DES PHTALATES.....	27
FIGURE 10 : PICTOGRAMME A APOSER SUR L'ETIQUETAGE ET SUR L'EMBALLAGE EN CAS DE PRESENCE DE PHTALATES DANS LE DISPOSITIF MEDICAL.....	30
FIGURE 11 : CHROMATOGRAMMES ILLUSTRANT LES PROBLEMES DE CO-ELUTIONS RENCONTREES PAR RADANIEL <i>ET AL</i> 37	
FIGURE 12 : ÉVOLUTION DU POURCENTAGE DE DISPOSITIFS MEDICAUX DE LA PERFUSION, NUTRITION ENTERALE ET NUTRITION PARENTERALE PRESENTS DANS LE SERVICE DE REANIMATION NEONATALE DU CHU DE LILLE EN 2009, 2014 ET 2017.....	39
FIGURE 13 : PRINCIPE DE LA CO-EXTRUSION.....	41
FIGURE 14 : COMPOSITION D'UN POLYMERE CO-EXTRUDE PE/PVC.....	41
FIGURE 15 : COEFFICIENTS DE PARTAGE OCTANOL/EAU PREDITS DES MOLECULES PRESENTANT DES RISQUES D'AD/ABSORPTION LORS D'UN CONDITIONNEMENT EN PVC (SYNTHESE DES DONNEES DISPONIBLES SUR LA BASE DE DONNEES STABILIS).....	45
FIGURE 16 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES PHENOMENES D'ADSORPTION, D'ABSORPTION ET DE PERMEATION.....	47
FIGURE 17 : REPRESENTATION DE LA STRUCTURE PROTEIQUE DE L'INSULINE HUMAINE.....	48
FIGURE 18 : STRUCTURE CHIMIQUE (A) DU PHENOL ET (B) DU METACRESOL.....	48
FIGURE 19 : DIFFUSION DE L'INSULINE DANS L'ORGANISME.....	49
FIGURE 20 : SCHEMA D'INSULINOTHERAPIE EN « BOLUS-BASAL ».....	53
FIGURE 21 : STRUCTURE CHIMIQUE DU DIAZEPAM.....	55
FIGURE 22 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU PHENOMENE DE DESORPTION.....	57
FIGURE 23 : PRINCIPE D'UN PLASMA FROID BASSE PRESSION ACTIVE PAR UN CHAMP ELECTRIQUE.....	63
FIGURE 24 : SCHEMA D'UNE ENCEINTE DE PLASMA FROID BASSE PRESSION.....	65
FIGURE 25 : CHANGEMENTS DE LA SURFACE DU PVC APRES UN TRAITEMENT AU PLASMA.....	68
FIGURE 26 : EXEMPLE DE REARRANGEMENTS POST-TRAITEMENT AU PLASMA D'ARGON.....	69
FIGURE 27 : EFFETS DU PLASMA FROID POUR LIMITER LES INTERACTIONS CONTENU-CONTENANT : L'ADSORPTION DES PRINCIPES ACTIFS ET LA MIGRATION DES PLASTIFIANTS.....	71
FIGURE 28 : ILLUSTRATION SCHEMATIQUE DU PVC PLASTIFIE CONTENANT LES NANOPARTICULES DE MNP-CDP.....	72
FIGURE 29 : STRUCTURE CHIMIQUE DE LA DOPAMINE (A) ET DE LA POLYDOPAMINE (B).....	73
FIGURE 30 : SYNTHESE DE POLYDOPAMINE (A) ET PROCESSEURS DE REVETEMENT DU SUBSTRAT (B).....	74
FIGURE 31 : IDENTIFICATION DES GROUPEMENTS ET DES FONCTIONS DE LA POLYDOPAMINE PERMETTANT LA LIAISON DE LA POLYDOPAMINE AU SUBSTRAT.....	75
FIGURE 32 : FORMATION DE LA COUCHE DE PDA SUR UNE SURFACE PAR IMMERSION.....	76
FIGURE 33 : ÉPAISSEUR DE LA COUCHE DE POLYDOPAMINE EN FONCTION DU TEMPS D'INCUBATION DE LA DOPAMINE AVEC LE TAMPON TRIS.....	76

FIGURE 34 : PREPARATION DES SOLUTIONS D'INSULINES (NOVORAPID® ET UMULINE RAPIDE®) DANS LES SERINGUES DE 50 ML.....	88
FIGURE 35 : CHROMATOGRAMME OBTENU AVEC LA METHODE UFLC-DAD DECRITE POUR L'INSULINE NOVORAPID®..	90
FIGURE 36 : ÉVOLUTION DES POURCENTAGES DES COMPOSES D'INSULINE UMULINE RAPIDE® RECUEILLIS : INSULINE HUMAINE (A) ET METACRESOL (B) LORS D'UNE PERFUSION DE 24 HEURES AVEC LES PROLONGATEURS EN PVC, PE ET PE/PVC.....	92
FIGURE 37 : ÉVOLUTION DES POURCENTAGE DES COMPOSES D'INSULINE NOVORAPID® RECUEILLIS : INSULINE ASPARTE (A), PHENOL (B) ET METACRESOL (C) AU COURS D'UNE PERFUSION DE 24 HEURES AVEC DES PROLONGATEURS EN PVC, PE ET PE/PVC.	95
FIGURE 38 : QUANTITE CUMULEE PENDANT LES HUIT PREMIERES HEURES DE PERFUSION POUR L'INSULINE UMULINE RAPIDE®: INSULINE HUMAINE (A) ET METACRESOL (B) AVEC LES PROLONGATEURS EN PVC, PE, PE/PVC.....	96
FIGURE 39 : QUANTITES CUMULEES RECUEILLIES PENDANT LES HUIT PREMIERES HEURES DE PERFUSION DE L'INSULINE NOVORAPID®: INSULINE ASPARTE (A), PHENOL (B) ET METACRESOL (C) AVEC LES PROLONGATEURS EN PVC, PE, PE/PVC.	97
FIGURE 40 : QUANTITE PERFUSEE PENDANT LA 24 ^{EME} HEURE POUR L'INSULINE UMULINE RAPIDE®: INSULINE HUMAINE (A) ET METACRESOL (B) AVEC LES PROLONGATEURS EN PVC, PE, PE/PVC.....	98
FIGURE 41 : QUANTITE PERFUSEE PENDANT LA 24 ^{EME} HEURE POUR L'INSULINE NOVORAPID®: INSULINE ASPARTE (A), PHENOL (B) ET METACRESOL (C) AVEC DES PROLONGATEURS EN PVC, PE, PE/PVC.	99
FIGURE 42 : PHOTOS DE MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE A UN GROSSISSEMENT DE × 200 OBTENUES POUR LE PVC (A), LE PVC APRES LA PERFUSION DE NOVORAPID® (B), LE PE (C), LE PE APRES LA PERFUSION DE NOVORAPID® (D), LE PE/PVC (E) ET LE PE/PVC APRES LA PERFUSION DE NOVORAPID® (F).....	105
FIGURE 43 : PHOTOS DE MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE A UN GROSSISSEMENT DE × 500 OBTENUES POUR LE PVC (A), LE PVC APRES LA PERFUSION DE NOVORAPID® (B), LE PE (C), LE PE APRES LA PERFUSION DE NOVORAPID® (D), LE PE/PVC (E) ET LE PE/PVC APRES LA PERFUSION DE NOVORAPID® (F).....	106
FIGURE 44 : PRINCIPE DE L'UTILISATION DE LA DERIVEE PREMIERE DES SPECTRES UV.	116
FIGURE 45 : SCHEMA DE LA METHODE D'EXTRACTION DES PLASTIFIANTS.....	118
FIGURE 46 : CHROMATOGRAMMES ILLUSTRANT LA CO-ELUTION DEHP/DEHA (A) ET LA CO-ELUTION DEHT/DINP (B).	121
FIGURE 47 : SPECTRES D'ABSORPTION DANS L'UV DU DEHP (A), DU DEHA (B), DU DEHT (C) ET DU DINP (D).	121
FIGURE 48 : SPECTRES DES DERIVEES PREMIERES DU DEHP ET DU DEHA.	122
FIGURE 49 : SPECTRES DES DERIVEES PREMIERES DU DEHT ET DU DINP.	123
FIGURE 50 : CHROMATOGRAMMES REPRESENTANT LES COELUTIONS ET LES COMPOSES SEULS A LA LONGUEUR D'ONDE DETERMINEE PAR L'ETUDE DE LA DERIVEE PREMIERE.....	124
FIGURE 51 : SPECTRES D'ABSORPTION DANS L'ULTRA-VIOLET DU BBP (A), DE L'ATBC (B), DU DINCH (C) ET DU TOTM (D).....	125
FIGURE 52 : QUANTIFICATION DES PLASTIFIANTS RETROUVES DANS LES DISPOSITIFS MEDICAUX TESTES.....	128
FIGURE 53 : PROTOCOLE EXPERIMENTAL.	138
FIGURE 54 : PROTOCOLE SUIVI POUR PREPARER LES DISQUES DE PVC PLASTIFIE AU DINCH ET AU TOTM.	140
FIGURE 55 : ÉQUIPEMENT EUROPLASMA PLASMA FROID A BASSE PRESSION.	141
FIGURE 56 : SOLUTION DE DZP CONTENANT UN DISQUE DE PVC FONCTIONNALISE OU NT POUR L'ETUDE DE LA SORPTION.....	147
FIGURE 57 : EXTRACTION DES PLASTIFIANTS DIRECTEMENT APRES LA FONCTIONNALISATION ET APRES LA MIGRATION.	148
FIGURE 58 : ANALYSE THERMOGRAVIMETRIQUE DES GRANULES DE PVC-DINCH ET PVC-TOTM (N =1).	151
FIGURE 59 : THERMOGRAMMES OBTENUS AVEC LE TOTM, LE PREMIER CYCLE DE CHAUFFAGE (-70°C A +200°C) (A) ET LE DEUXIEME CYCLE DE CHAUFFAGE (-70°C A +200°C) (B).	152
FIGURE 60 : THERMOGRAMMES OBTENUS AVEC LE DINCH, LE PREMIER CYCLE DE CHAUFFAGE (-70°C A +200°C) (A) ET LE DEUXIEME CYCLE DE CHAUFFAGE (-70°C A +200°C) (B).	153
FIGURE 61 : ANGLES DE CONTACT DES DISQUES PLASTIFIES AU TOTM NON TRAITES ET FONCTIONNALISES A J0 (A) ET J7 (B).	156
FIGURE 62 : ANGLES DE CONTACT DES DISQUES PLASTIFIES AU DINCH NON TRAITES ET FONCTIONNALISES A J0 (A) ET J7 (B).	158

FIGURE 63 : SPECTRE INFRA-ROUGE DU TOTM.	160
FIGURE 64 : SPECTRE INFRA-ROUGE DU PVC PLASTIFIE AU TOTM NON TRAITE.....	161
FIGURE 65 : SPECTRE INFRA-ROUGE DU PVC TRAITE PAR P2 (ORANGE), P2+PDA (BLEU), P2+PDA+R (VERT), P2+PDA+P2 (ROSE).	162
FIGURE 66 : SPECTRE INFRA-ROUGE DU PVC PLASTIFIE AU DINCH NON TRAITE.....	163
FIGURE 67 : SPECTRES INFRA-ROUGE DES PVC PLASTIFIES AU DINCH TRAITE PAR DU PLASMA (BLEU), REVETU D'UNE COUCHE DE POLYDOPAMINE (P2+PDA, NOIR) ET AYANT UN POST- TRAITEMENT PAR DU RECUIT (P2+PDA+ R, VERT) OU DU PLASMA (P2+PDA+P2, ROUGE).	163
FIGURE 68 : PHOTOS DE MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE, GROSSISSEMENT × 3300.	165
FIGURE 69 : VIABILITE CELLULAIRE DES ECHANTILLONS DE PVC-TOTM ET PVC-DINCH.	166
FIGURE 70 : POURCENTAGE DE DIAZEPAM ADSORBE SUR LES FILMS DE PVC PLASTIFIES AU TOTM ET FONCTIONNALISES ET NON TRAITES A J1, J2, J3, J6 ET J7.....	169
FIGURE 71: ÉVOLUTION DE LA SORPTION DU DIAZEPAM ADSORBE SUR LE PVC PLASTIFIE AU TOTM AU COURS DE L'ETUDE OLYDOPAMINE.....	170
FIGURE 72 : POURCENTAGE DE DIAZEPAM ADSORBE SUR LES PVC PLASTIFIES AU DINCH FONCTIONNALISES ET NON TRAITES A J1, J2, J3, J6 ET J7	173
FIGURE 73 : ÉVOLUTION DE LA SORPTION DU DIAZEPAM ADSORBE SUR LE PVC-DINCH.....	174
FIGURE 74 : COMPARAISON ENTRE LE POURCENTAGE DE PLASTIFIANT AYANT MIGRE PUIS EXTRAIT (EN BLEU) ET CELUI DIRECTEMENT EXTRAIT APRES FONCTIONNALISATION (EN ORANGE)	179
FIGURE 75 : POURCENTAGE DE TOTM AYANT MIGRE PENDANT 24 HEURES ET 72 HEURES D'INCUBATION.....	181
FIGURE 76 : POURCENTAGE DE DINCH AYANT MIGRE PENDANT 24 HEURES ET 72 HEURES.	183
FIGURE 77 : PRINCIPE DE L'OXYGENATION PAR MEMBRANE EXTRA-CORPORELLE.	206

Liste des tableaux

TABLEAU 1 : AVANTAGES ET INCONVENIENTS DE L'UTILISATION DU PVC.....	25
TABLEAU 2 : CATEGORIES DE SUBSTANCES CMR ET DEFINITION DE CES CATEGORIES AU SENS DE LA REGLEMENTATION EUROPEENNE EN VIGUEUR SELON LE REGLEMENT (CE) N° 1272/2008	28
TABLEAU 3 : STRUCTURES CHIMIQUES, DOMAINES D'UTILISATION SELON LES DISPOSITIFS MEDICAUX ET TOXICITE DES PLASTIFIANTS.	32
TABLEAU 4 : LISTE DES DIFFERENTES INSULINES DISPONIBLES EN FRANCE SELON LEUR DELAI ET DUREE D'ACTION.	50
TABLEAU 5 : CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES PLASTIFIANTS.	58
TABLEAU 6 : COMPOSITION DES INSULINES UMULINE RAPIDE® ET NOVORAPID®.	85
TABLEAU 7 : CARACTERISTIQUES DES PROLONGATEURS UTILISES.....	88
TABLEAU 8 : PARAMETRES DE QUANTIFICATION DE L'ANALYSE UFLC-DAD.	91
TABLEAU 9 : COMPARAISON DU POURCENTAGE DES DEUX INSULINES (HUMAINE ET ASPARTE) RECUEILLIES PENDANT LA PERFUSION AVEC DES PROLONGATEURS EN PVC.....	100
TABLEAU 10 : COMPARAISON DU POURCENTAGE DES DEUX INSULINES (HUMAINE ET ASPARTE) RECUEILLIES PENDANT LA PERFUSION AVEC DES PROLONGATEURS EN PE.	101
TABLEAU 11 : : COMPARAISON DU POURCENTAGE DES DEUX INSULINES (HUMAINE ET ASPARTE) RECUEILLIES PENDANT LA PERFUSION AVEC DES PROLONGATEURS EN PE/PVC.	102
TABLEAU 12 : COMPARAISON DU POURCENTAGE DE METACRESOL RECUEILLI CONTENU DANS LES DEUX INSULINES (UMULINE RAPIDE® ET NOVORAPID®) PENDANT LA PERFUSION AVEC DES PROLONGATEURS EN PVC.	103
TABLEAU 13 : COMPARAISON DU POURCENTAGE DE METACRESOL RECUEILLI CONTENU DANS LES DEUX INSULINES (UMULINE RAPIDE® ET NOVORAPID®) PENDANT LA PERFUSION AVEC DES PROLONGATEURS EN PE.....	103
TABLEAU 14 : COMPARAISON DU POURCENTAGE DE METACRESOL RECUEILLI CONTENU DANS LES DEUX INSULINES (UMULINE RAPIDE® ET NOVORAPID®) PENDANT LA PERFUSION AVEC DES PROLONGATEURS EN PE/PVC.	104
TABLEAU 15 : DESCRIPTION DE L'EVOLUTION DU GRADIENT D'ELUTION UTILISE DANS LA METHODE DE DOSAGE DES PLASTIFIANTS.	114
TABLEAU 16 : CONCENTRATIONS DES STANDARDS DE VALIDATION ET DES CONTROLES DE QUALITE DES PLASTIFIANTS UTILISES LORS DE LA VALIDATION.	117
TABLEAU 17 : CONCENTRATIONS DE LA SOLUTION MERE DE L'ETALON INTERNE (BBP).....	117
TABLEAU 18 : LISTE DES DISPOSITIFS MEDICAUX ANALYSES.	119
TABLEAU 19 : TEMPS DE RETENTION DES PLASTIFIANTS.....	120
TABLEAU 20 : LONGUEURS D'ONDE (NM) D'ANALYSE POUR CHAQUE PLASTIFIANT ETUDIE.	125
TABLEAU 21 : PARAMETRES DE VALIDATION DES GAMMES DE PLASTIFIANTS ET LES LIMITES DE DETECTION ET QUANTIFICATION.	126
TABLEAU 22 : BIAIS RELATIFS POUR CHAQUE PLASTIFIANT ETUDIE.	127
TABLEAU 23 : QUANTIFICATION DES PLASTIFIANTS RETROUVES DANS LES DISPOSITIFS MEDICAUX TESTES.	127
TABLEAU 24 : QUANTIFICATION DES PLASTIFIANTS RETROUVES DANS LES DISPOSITIFS MEDICAUX TESTES PAR LES AUTRES TECHNIQUES DU PROJET ARMED	129
TABLEAU 25: REFERENCES DES PRODUITS UTILISES POUR L'ETUDE.	139
TABLEAU 26 : CONDITIONS DE TRAITEMENT PAR PLASMA FROID BASSE PRESSION.	141
TABLEAU 27 : ÉCART-RELATIF (%) ENTRE LES SORPTIONS AVEC LE PVC-TOTM FONCTIONNALISE ET NT.....	170
TABLEAU 28 : ÉCART-RELATIF (%) ENTRE LES SORPTIONS AVEC LE PVC-DINCH FONCTIONNALISES ET NT.....	174
TABLEAU 29 : CONCENTRATION DE PLASTIFIANT DOSE DANS LES GRANULES, FEUILLES ET FILMS DE PVC.	177
TABLEAU 30 : PROBABILITES ISSUES DE LA COMPARAISON ENTRE LE POURCENTAGE DE PLASTIFIANT AYANT MIGRE PENDANT 24 HEURES ET 72 HEURES ET EXTRAIT APRES MIGRATION ET CELUI DIRECTEMENT EXTRAIT APRES LA FONCTIONNALISATION.....	180
TABLEAU 31 : PARAMETRES DE VALIDATION DES GAMMES DE MIGRATION DU TOTM ET DU DINCH.	181
TABLEAU 32 : ÉCART-RELATIF ENTRE LA MIGRATION DU TOTM DU PVC NT ET DU PVC FONCTIONNALISE.....	182
TABLEAU 33 : ÉCART-RELATIF ENTRE LA MIGRATION DU DINCH DU PVC NT ET DU PVC FONCTIONNALISE.....	183

TABLEAU 34 : POURCENTAGES D'INSULINE HUMAINE ET DE METACRESOL RECUEILLIS AVEC LES PROLONGATEURS EN PVC, PE ET PE/PVC AU COURS D'UNE PERFUSION DE 24 HEURES.	208
TABLEAU 35 : POURCENTAGES D'INSULINE ASPARTE, DE PHENOL ET DE METACRESOL RECUEILLIS AVEC LES PROLONGATEURS EN PVC, PE ET PE/PVC AU COURS D'UNE PERFUSION DE 24 HEURES.	209
TABLEAU 36 : ANGLES DE CONTACT (°) DU PVC-TOTM NT ET FONCTIONNALISES A J0 ET J7.....	210
TABLEAU 37 : ANGLES DE CONTACT (°) DU PVC-DINCH NT ET FONCTIONNALISES A J0 ET J7.....	210
TABLEAU 38 : VIABILITE CELLULAIRE (%) DES ECHANTILLONS TESTES.....	211
TABLEAU 39 : VALEURS DU POURCENTAGE DE DZP ADSORBE SUR LE PVC-TOTM NT ET FONCTIONNALISES	211
TABLEAU 40 : VALEURS DU POURCENTAGE DE DZP ADSORBE SUR LES PVC-DINCH NT ET FONCTIONNALISES.	212
TABLEAU 41 : VALEURS DU POURCENTAGE DE TOTM AYANT MIGRE A PARTIR DU PVC-TOTM NT ET DES PVC FONCTIONNALISES.....	212
TABLEAU 42 : VALEURS DU POURCENTAGE DE DINCH AYANT MIGRE A PARTIR DU PVC-DINCH NT ET DES PVC FONCTIONNALISES.....	213

INTRODUCTION

En milieu hospitalier, la voie parentérale est très utilisée pour l'administration de médicaments. Cette voie correspond à l'administration de médicaments par injection. On distingue i) les injections qui se font par la voie générale, avec un passage des médicaments dans le compartiment sanguin telles que les injections intra-musculaires, intra-veineuses et sous-cutanées, ii) les injections par la voie loco-régionale, dans laquelle le médicament administré reste dans le compartiment injecté, citons par exemple les injections intra-artérielles, intra-articulaires, intra-cardiaques et intra-rachidiennes. La voie intraveineuse peut être réalisée soit de manière discontinue, on parle alors d'administration discontinue ou de bolus intraveineux direct, soit de manière continue, il s'agit alors de la perfusion. La voie parentérale nécessite une formation rigoureuse et une connaissance de l'équipe soignante. En effet, l'administration de médicaments par cette voie fait très souvent appel à plusieurs types de dispositifs médicaux (DMs).

Il est très largement décrit dans la littérature que des échanges physico-chimiques appelés interactions contenu-contenant (sorption/désorption voire perméation) peuvent se produire entre le matériau constitutif de ces DMs et les médicaments, lipides ou éléments sanguins administrés. Il est primordial de connaître et de maîtriser ces interactions puisqu'elles peuvent avoir de lourdes conséquences sur les patients. Elles se produisent principalement avec le polychlorure de vinyle (PVC), qui reste un des matériaux les plus utilisés dans la fabrication des DMs de perfusion. Afin de prévenir et limiter ces interactions et/ou d'améliorer leurs propriétés intrinsèques, il est possible de modifier ces DMs par des procédés physico-chimiques. Dans le cadre de cette thèse, le PVC a été choisi comme matériau de référence, sa surface a été modifiée par différents traitements physico-chimiques (i.e. plasma froid, dépôt de film de polymères) de façon à limiter les interactions contenu-contenant (i.e. sorption de principes actifs (PA) et désorption de plastifiants) tout en conservant les propriétés intrinsèques du PVC recherchées dans les hôpitaux, à savoir la souplesse et la biocompatibilité, etc.

Le premier objectif de la thèse est d'étudier les interactions contenu-contenant avec le PVC. Pour cela, les deux types d'interactions majeures rencontrées à l'hôpital seront ainsi illustrés au travers de deux exemples : i) la sorption avec l'insuline asparte et l'insuline humaine et ii) la désorption avec le dosage des plastifiants utilisés dans des DMs commercialisés.

Le second objectif est de limiter ces interactions et d'assurer la sécurité des patients lors de l'utilisation de ces DMs plastifiés. Pour cela, la stratégie a été de modifier la surface du PVC grâce à différents types de traitements (physiques avec le plasma, chimiques avec la polydopamine - PDA).

Revue de la littérature

I. La perfusion

1. Les différents modes de perfusion

La perfusion se définit par l'administration de médicaments, de solutés physiologiques, de produits dérivés du sang par un abord veineux ou parfois par voie sous-cutanée, artérielle, intrathécale, à un rythme régulier étalé dans le temps et à but thérapeutique ou diagnostique. Les abords veineux peuvent être classés en deux catégories : i) l'abord périphérique, il s'agit de la voie veineuse périphérique, qui fait appel à des veines sus-aponévrotiques, visibles et palpables (telles que la veine radiale au niveau de l'avant-bras). Les DMs utilisés sont des dispositifs épicrotaliens, cathéters courts et mid-lines ; ii) l'abord central, on parle alors de voie veineuse centrale, qui utilise les veines de gros calibre, sous-aponévrotique, invisibles et profondes comme la sous-clavière, jugulaire interne ou fémorale. Dans le cathétérisme central, les DMs sont des cathéters veineux centraux, cathéters tunnelisés, des picc-lines, des chambres implantables.

En comparaison avec les autres voies d'administration (orale, transdermique...), les médicaments agissent plus rapidement par perfusion. Cette voie est donc très utilisée pour les traitements d'urgence (dans les services de réanimation) et dans les cas les plus graves. En raison de la pharmacocinétique de cette voie, dans laquelle le médicament est directement administré dans le sang, la quantité de médicament dans l'organisme est également mieux contrôlée par rapport à d'autres voies, comme la voie orale (1).

L'ensemble des DMs nécessaires à la perfusion s'appelle une ligne de perfusion. Cette ligne dite « principale » est généralement constituée d'un cathéter périphérique ou central (situé dans une veine du patient) et d'un prolongateur ou d'une tubulure. Une ligne « secondaire » peut également être utilisée et concerne alors tous les DMs mis en Y par rapport à la ligne principale. Dans la figure 1, la ligne principale est en bleu, tandis que lignes secondaires sont en rouge et jaune.

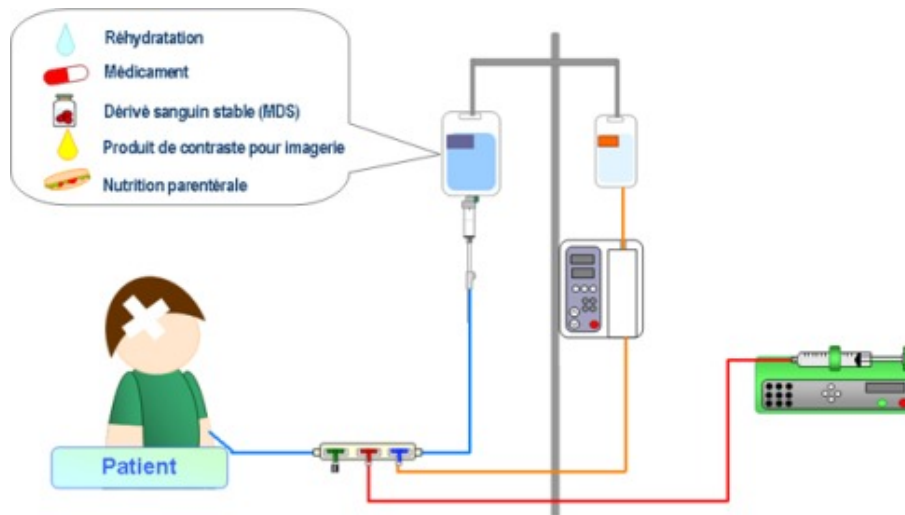


Figure 1 : Schématisation des lignes de perfusion d'après les Bonnes Pratiques de perfusion : « Bon Usage du perfuseur par gravité » (1).

La perfusion est un acte fréquent à l'hôpital. En effet, l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM) en 2013 a noté une consommation de 63% des formes injectables dans les établissements de santé, faisant de cette voie d'administration la plus utilisée (2). La perfusion est également de plus en plus développée en ville, puisqu'en 2013, 5,6% (2) des médicaments consommés en ville étaient sous forme injectable contre 4,2% en 2011 (3). La bonne réalisation de la perfusion nécessite l'utilisation de DMs adaptés aux propriétés des molécules médicamenteuses perfusées. En effet, les molécules médicamenteuses à faible marge thérapeutique (comme les catécholamines...) requièrent une administration contrôlée par des pousse-seringues électriques (PSE) (figure 2) (4) faisant intervenir des DMs (comme des prolongateurs) en PVC. La précision du débit de perfusion des PSE est de $\pm 3\%$ par rapport au débit nominal. Les caractéristiques des PSE sont normées sur la conception et les performances (5). Pour utiliser ces PSE, les volumes perfusés doivent être inférieurs ou égaux à 50 mL, puisque l'administration nécessite l'utilisation de seringues également normées en terme de conception et de performance (ISO 7886-2:1996). En général, les seringues utilisables avec les PSE ont des capacités comprises entre 10 et 50 mL. Les débits de perfusion utilisés sont généralement compris entre 0,3 et 10 mL/h, la durée de perfusion est variable (entre 30 minutes et 24 heures) et dépend du médicament administré.



Figure 2 : Pousse-seringue électrique (Fresenius Vial®).

Pour les plus grands volumes de médicaments, nécessitant une administration à débit contrôlé, des pompes volumétriques peuvent être utilisées. Dans ce cas-là, la précision du débit de perfusion est de $\pm 5\%$ par rapport au débit nominal (6), les spécifications des pompes sont également normées pour la conception et les performances (figure 3) (7).



Figure 3 : Pompe volumétrique et tubulure de perfusion d'après le « Socle de connaissances sur la perfusion en anesthésie réanimation » (6).

Pour les autres molécules, typiquement les solutés (i.e. sérum salé isotonique (SSI), ringer lactate...) ne nécessitant pas de contrôle précis du débit d'administration, l'utilisation de perfuseurs par gravité (8) peut être envisagée. Lors de la perfusion par gravité, le réglage du débit est réalisé soit à l'aide d'un clamp à roulette, soit d'un régulateur dit de précision (figure 4).

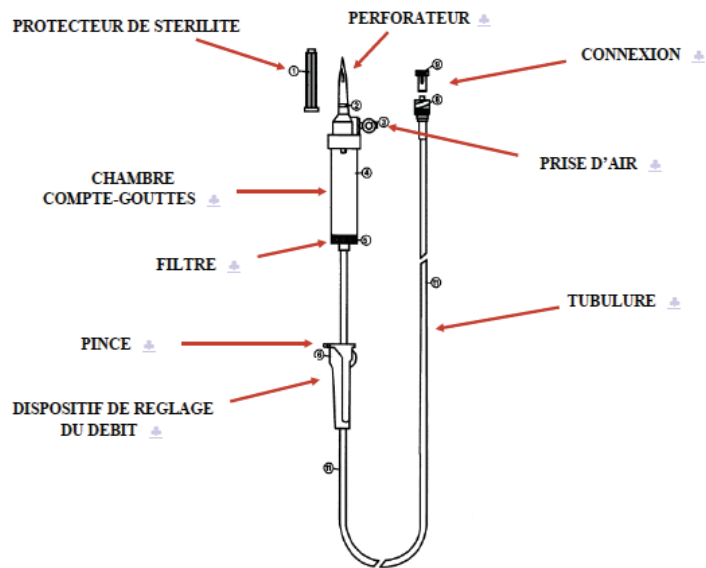


Figure 4 : Composition et description d'un perfuseur par gravité avec un réglage de débit par un clamp à roulette d'après le « Socle de connaissances sur la perfusion en anesthésie réanimation »(6).

L'administration des médicaments par les pompes volumétriques et les PSE nécessite également l'utilisation de prolongateurs et de tubulures de perfusion. D'autres éléments, comme des robinets 3 voies, des rampes de robinets, des valves uni et bidirectionnelles et des filtres anti-particulaires peuvent également être rajoutés sur la ligne de perfusion (figure 5) (6). Les robinets 3 voies et rampes de robinets permettent l'ajout de perfusions médicamenteuses supplémentaires. Les valves unidirectionnelles correspondent aux valves anti-siphon et anti-retour et permettent uniquement le passage d'une solution à partir de son contenant (poche, seringue, flacon) au patient. Ces deux types de valves se différencient par leur pression d'ouverture, les valves anti-siphon s'ouvrent avec une pression élevée (c'est-à-dire avec un PSE) tandis que les valves anti-retour s'ouvrent avec une moindre pression (avec un perfuseur par gravité, par exemple). Quant aux valves bidirectionnelles, elles permettent le passage de médicaments du contenant au patient et le prélèvement sanguin du patient. Les filtres anti-particulaires sont utilisés pour limiter les contaminations bactériennes et particulaires, par exemple, dans le cas des incompatibilités physico-chimiques entre les différents médicaments perfusés.

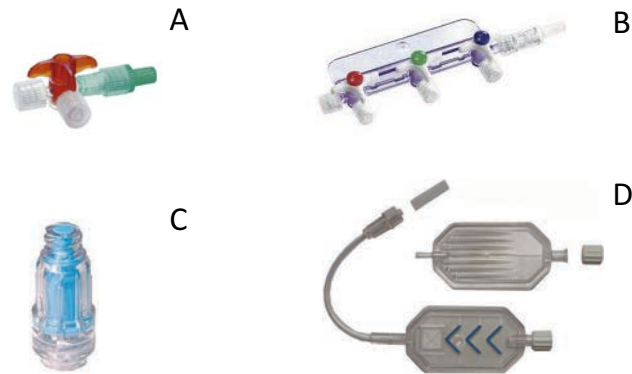


Figure 5 : Robinet 3 voies (A), rampe de 3 robinets (B), valve bidirectionnelle (C) et filtres anti particulaires (D).

Les dispositifs cités précédemment sont le plus souvent transparents mais peuvent également être opaques afin de permettre la perfusion de médicaments photosensibles (isoprénaline (9), nitroprussiate de sodium (10) ...).

2. Les matériaux des dispositifs médicaux de perfusion

a. Polymères utilisés dans les DMs de perfusions

Les principaux matériaux utilisés dans la fabrication des prolongateurs de PSE, des tubulures des perfuseurs par gravité et des pompes volumétriques sont : le polychlorure de vinyle (PVC), le polyéthylène (PE), le polyuréthane (PUR), le silicone, le co-extrudé (PE/PVC ; PUR/PVC) et les multicouches (PE/ Ethylène acétate de vinyle - EVA /PVC).

Les DMs en PE et en PVC sont fabriqués par extrusion. L'extrusion consiste à pousser une matière fondue à travers une filière pour lui donner une forme et une géométrie définies (tubes, feuilles, plaques...). Ce procédé est largement utilisé pour la mise en forme des polymères thermoplastiques.

b. Le polychlorure de vinyle

Le PVC représente environ 12% de l'ensemble des plastiques utilisés tout secteur confondu. On estime que près de 61 millions de tonnes de PVC ont été produites en 2012 (11). Son

utilisation est ubiquitaire, on le retrouve dans le domaine de l'automobile, de la construction, du médical mais également dans de nombreuses cartes, emballages et vêtements.

i. Structure du polychlorure de vinyle

Le PVC est un matériau thermoplastique obtenu par polymérisation du monomère chlorure de vinyle (figure 6). Cet homopolymère est plutôt amorphe avec un taux de cristallinité de l'ordre de 7%.

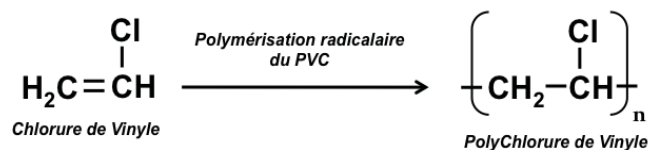


Figure 6 : Structure du polychlorure de vinyle.

Il se présente sous la forme d'une poudre blanche, à laquelle différents produits sont ajoutés :

- Des stabilisants à la chaleur et à la lumière, comme par exemple le stéarate de zinc.
- Des plastifiants (tels que les phtalates), qui vont permettre d'assouplir le PVC (rigide à température ambiante) afin de diminuer sa température de transition vitreuse (Tg) qui, sans ajout de plastifiants, est comprise entre 75 et 80°C. Les plastifiants ne sont pas liés de manière covalente au PVC mais par des interactions électrostatiques faibles comme, par exemple, des liaisons de Van der Waals (de type dipôle-dipôle). Ces interactions se font entre le carbone lié au chlore du PVC et la partie polaire du plastifiant (12). Selon l'utilisation souhaitée, les plastifiants peuvent représenter jusqu'à 50% masse/masse (m/m) (13).
- Des lubrifiants (comme le stéarate de calcium par exemple), afin d'éviter que le matériau ne colle aux parois des moules et pour réduire le frottement interne lors de la fabrication.

ii. Propriétés du polychlorure de vinyle

Le PVC est un matériau très utilisé dans les DMs présents dans les services cliniques. Chiellini *et al.* (13) ont énuméré les avantages et les inconvénients du PVC dans son utilisation médicale (tableau 1).

Tableau 1 : Avantages et inconvénients de l'utilisation du PVC, d'après Chiellini *et al.* (13).

Avantages	Inconvénients
Inertie	Utilisation importante de plastifiants
Transparence	Origine pétrochimique
Facilité de stérilisation	Sorption avec les principes actifs
Durabilité	Perméabilité à l'oxygène, eau, dioxyde de carbone
Flexibilité	
Coût peu élevé	
Stabilité chimique	
Biocompatibilité	

Ainsi, le PVC présente de bonnes propriétés mécaniques (résistance à l'abrasion, rigidité à température ambiante), chimiques (14) et thermiques. L'addition de plastifiants diminue cette Tg à - 40°C et permet alors de proposer un PVC souple à température ambiante (15). Cette Tg permet de pouvoir le congeler et de conserver de nombreux médicaments dans des poches en PVC au réfrigérateur ou au congélateur (16,17). Le PVC est également un matériau transparent, caractéristique très recherchée dans les DMs puisqu'il est possible de voir la formation éventuelle de précipités lors de la perfusion de médicaments incompatibles, comme le montre la figure 7 (18).

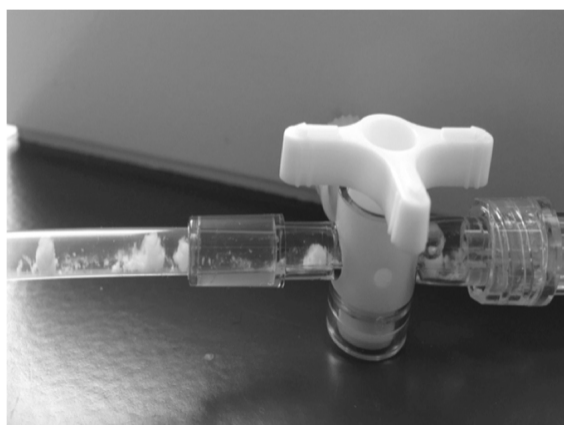


Figure 7 : Précipité visible observé à la sortie du robinet à trois voies de la ligne de perfusion intraveineuse en raison d'une incompatibilité médicamenteuse entre du midazolam et du furosémide d'après Perez *et al.*(18).

Bien que ce polymère soit très utilisé dans les DMs, sa structure amorphe, ses groupements chimiques de surface et la présence de plastifiants le rend malheureusement très sujet aux interactions contenu-contenant (figure 8) présentant ainsi notamment des phénomènes d'adsorption et de migration.

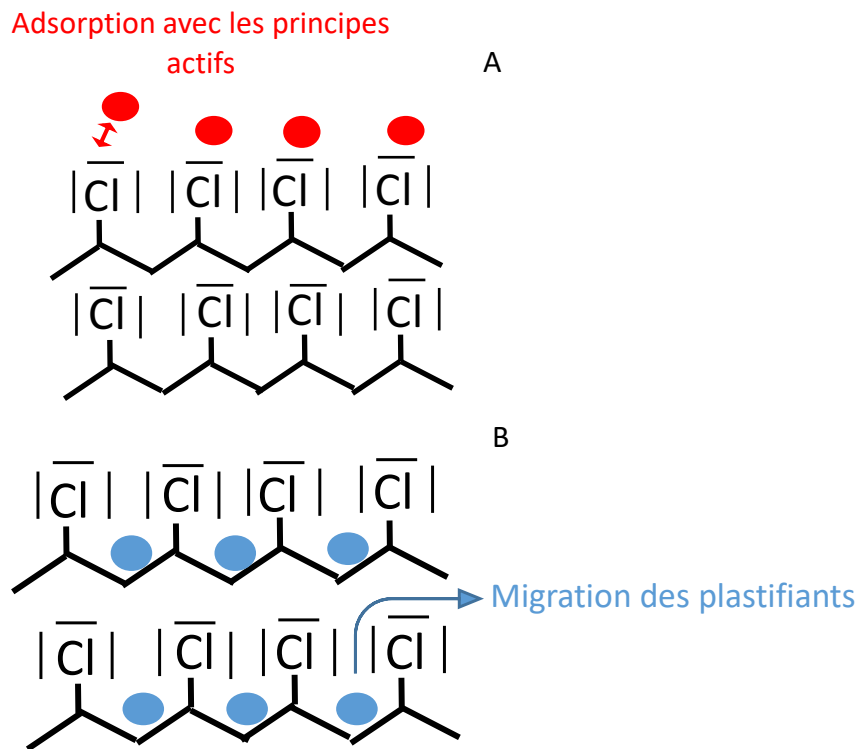


Figure 8 : Illustration des interactions contenu-contenant avec le polychlorure de vinyle, sorption des principes actifs (A) et migration des plastifiants (B).

En effet, les PA peuvent interagir avec les doublets du chlorure et s'adsorber à la surface du matériau, il s'agit du phénomène de sorption. D'autre part, n'étant pas fortement liés au PVC, les plastifiants sont susceptibles de migrer du dispositif médical (DM) vers les liquides en contact avec ces derniers (mélanges nutritifs, solutions médicamenteuses, sang) et ainsi être administrés au patient, il s'agit du phénomène de migration.

iii. Les plastifiants du PVC

Comme nous l'avons signalé, ces plastifiants peuvent représenter jusqu'à 50% (m/m) du poids du plastique en fonction des propriétés finales désirées (13). Il existe plusieurs classes de plastifiants :

- Les phtalates (les plus couramment utilisés) : 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 9) 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. Le DEHP a longtemps été le chef de file des phtalates.

- 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).

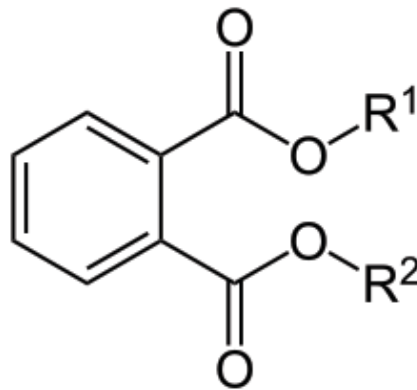


Figure 9 : Structure générale des phtalates.

➤ Le DEHP : toxicité et réglementation

Historiquement, le DEHP est le plastifiant le plus utilisé (19,20). 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 (21,22). C'est pourquoi, il est particulièrement utilisé pour les DMs de stockage de produits sanguins (23).

Ruzickova *et al.* (24) ont publié un rapport en 2004 pour prévenir les effets nocifs des phtalates et éviter l'utilisation des DMs en PVC dans les hôpitaux. Ils ont récolté 48 DMs de 7 pays européens (Autriche, République Tchèque, France, Allemagne, Pologne, Espagne et Suède) utilisés dans des services de soins. Plus de la moitié des DMs testés étaient utilisés dans les unités de pédiatrie et de néonatalogie. Les différents types de DMs étaient des prolongateurs et tubulures de perfusion, des tubulures de nutrition parentérale (NP), des sondes nasogastriques et d'intubation endotrachéale, des cathéters, des poches de nutrition entérale et NP et des masques à oxygène. Le polymère utilisé dans ces DMs a été déterminé par

spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) et les plastifiants par chromatographie gazeuse couplée à de la spectrométrie de masse (CG-SM). Sur les 48 DMs étudiés, 40 d'entre eux étaient en PVC. Tous ces DMs en PVC étaient plastifiés avec du DEHP sauf un qui n'a pas été identifié dans l'étude. Le pourcentage de DEHP présent dans le PVC était compris entre 17 et 41% m/m, car à cette époque le DEHP n'avait pas son utilisation réglementée, comme nous le verrons par la suite. Parmi les 8 DMs sans PVC, le matériau était de l'EVA, du PE, du PUR et du polyamide. Dans un DM en EVA, du DEHP à l'état de traces (0,02% m/m) a été retrouvé. Les auteurs ont conclu à une possible contamination lors de la fabrication du dispositif, la poche de nutrition en EVA étant en effet associée à une tubulure en PVC qui contenait 32% m/m de DEHP. Ainsi, bien qu'une partie du dispositif soit substituée, les auteurs ont souligné que les patients sont toujours exposés au DEHP par cette tubulure.

Ce phénomène de désorption est d'autant plus grave que le DEHP a été classé Cancérogène Mutagène ou toxique pour la Reproduction (CMR) de catégorie 1B selon la directive 67/548/CEE (25). Cette directive a été remplacée depuis le 20 janvier 2009 par le règlement européen (CE) n° 1272/2008 (26), le DEHP y est classé comme perturbateur endocrinien (tableau 2). Il a en effet été montré que le DEHP pouvait entraîner des troubles sur la fertilité et la reproduction (27,28).

Tableau 2 : Catégories de substances CMR et définition de ces catégories au sens de la réglementation européenne en vigueur selon le règlement (CE) n° 1272/2008 (26).

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

Le DEHP est le plastifiant dont la toxicité a été la plus étudiée. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a défini en 2012 le terme «perturbateur endocrinien» comme «toute substance chimique d'origine naturelle ou synthétique, étrangère à l'organisme, susceptible d'interférer avec le fonctionnement du système endocrinien sur un organisme intact ou sa

descendance»(29).

De nombreuses études ont en effet montré la reprotoxicité du DEHP chez la femme (30) et chez l'homme (31,32). Des corrélations ont été mises en évidence entre les concentrations urinaires de DEHP retrouvées chez les patients, l'infertilité (33) et l'endométriose (34). Le DEHP est associé à la production de tumeurs hépatiques chez le rat et la souris (35). Son métabolite principal, le mono 2-ethylhexyl phthalate a également été considéré comme un proliférateur de péroxysomes (36).

La population pédiatrique est sans doute la plus exposée et la plus vulnérable à la toxicité du DEHP. Les nouveau-nés sont exposés au DEHP in utero au cours de la grossesse (37,38) ou par l'intermédiaire des DMs au cours de leur hospitalisation dès les premiers jours de vie (39). L'exposition des nouveau-nés et enfants à ces plastifiants peut être lourde de conséquence, comme l'atteste l'étude menée par Verstraete *et al.* (40) dans un service de réanimation pédiatrique qui a permis de montrer qu'il existait une corrélation positive entre le taux d'exposition au DEHP et de ses métabolites et la survenue d'un déficit de l'attention à 5 ans.

Ces différentes études ont donc permis de mettre en évidence la toxicité du DEHP, imposant aux autorités de santé de réglementer son utilisation. En 2005, la directive 2005/84/CE (41) 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 (42) 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% (m/m). Ainsi, la présence de DEHP dans les DMs ne doit plus avoisiner les 20-40% (m/m).

En 2008, le rapport du comité scientifique des risques sanitaires émergents et nouveaux (*Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks* - SCENIHR) (43) et plus récemment dans sa mise à jour en 2015 (44), 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 lors de chirurgies cardiaques (CEC), l'Oxygénation

par Membrane Extra-Corporelle (*ExtraCorporeal Membrane Oxygenation* - ECMO, le principe de l'ECMO est décrit en annexe 1), les nutrition parentérale et entérale, ou encore la perfusion de solutions lipophiles. Ce rapport a permis d'introduire des plastifiants alternatifs au DEHP : l'ATBC, le DEHA, le DEHT, le DINP, le DINCH et le TOTM.

Ainsi, en 2009, l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (45) a édité des recommandations annonçant la mise en application des exigences de la directive 2007/47/CE (46). 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. Dans ce cas, la présence des phtalates doit figurer sur l'étiquetage et sur l'emballage du produit (figure 10), 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 21/03/2010.



Figure 10 : Pictogramme à apposer 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 (47) 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, des sondes, des tubes et raccords des circuits respiratoires (48), un amendement a été prononcé en 2015 pour modifier l'article III (49) mais précise que les établissements de soins doivent privilégier les DMs contenant la plus faible valeur de DEHP.

Cependant cette réglementation n'est pas toujours appliquée et le DEHP reste encore présent dans les services hospitaliers. En effet, Fisher Fumeaux *et al.* (50) ont retrouvé du DEHP dans

6% des DMs utilisés dans un service, en particulier dans les DMs destinés à l'assistance respiratoire. De même, Genay *et al.* (51), en 2011 ont trouvé des traces de DEHP dans les DMs étiquetés « sans DEHP ». Un manque d'information sur l'emballage concernant la présence de phtalates a été mis en évidence au travers de ces 2 études.

En mai 2016, l'ANSM a réalisé un contrôle de l'état du marché français des DMs pour vérifier l'absence de phtalates classés CMR 1A ou 1B (52). 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 (53). 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 également mis en évidence le manque d'informations concernant l'étiquetage de ces DMs contenant les phtalates.

Ces exemples montrent que malgré la réglementation du DEHP, celui-ci reste encore présent dans les DMs utilisés dans les services de soins.

➤ Les plastifiants alternatifs

Une des alternatives serait de conserver le PVC et d'utiliser d'autres plastifiants comme ceux définis dans le rapport SCENIHR (43) : l'ATBC, le DEHT, le DEHA, le DINP, le DINCH et le TOTM. Les structures chimiques et la toxicité des plastifiants ainsi que leur domaine d'utilisation en clinique (54) sont synthétisés dans le tableau 3.

La toxicité des plastifiants alternatifs au DEHP n'a fait l'objet que de peu d'études chez l'homme. De plus, la majorité des études concernent la voie orale et non la voie non injectable qui reste la voie d'exposition la plus importante pour les patients hospitalisés.

Le rapport du SCENIHR en 2008 a listé les différentes valeurs des doses sans aucun effet (*No Observed Adverse Effect Level* - NOAEL), c'est-à-dire la dose la plus élevée d'une substance qui ne provoque pas de modifications chez les animaux. Les valeurs des différents plastifiants sont reprises dans le tableau 3.

Afin d'estimer la toxicité des plastifiants à des concentrations retrouvées dans les fluides biologiques après une exposition avec les DMs, Eljezi *et al.* (55) ont mené une étude *in vitro* à 3 concentrations (0,01 ; 0,05 et 0,1 mg/mL). Les auteurs ont montré que *in vitro* que les métabolites primaires des plastifiants sont plus toxiques que les molécules mères.

Tableau 3 : Structures chimiques, domaines d'utilisation selon les dispositifs médicaux et toxicité des plastifiants.

Nom du plastifiant	Identifiants CAS	Formules moléculaires et structures chimiques		Utilisation en clinique d'après (54)	Concentration (mg/mL) toxique sur des cellules L929 (55)	NOAEL (mg/kg) (43)	Reprotoxique
Benzyl-Butyl-Phtalate (BBP)	85-68-7	C ₁₉ H ₂₀ O ₄		Non utilisé	Non testé	Données non disponibles	Données non disponibles
Acetyl TriButyl Citrate ou Tributyl 2-acetylcitrate (ATBC)	77-90-7	C ₂₀ H ₃₄ O ₈		Nutrition entérale et parentérale Oxygénation par Membrane Extra-Corporelle (ECMO)	Non testé	100	Non
Di-2-EthylHexyl-Phtalate (DEHP)	117-81-7	C ₂₄ H ₃₈ O ₄		ECMO Transfusion	0,05	4,8	Oui
Di-2-ethylhexyl Adipate (DEHA)	103-23-1	C ₂₂ H ₄₂ O ₄		Hémodialyse Transfusion ECMO Perfusion Nutrition entérale	Non toxique aux concentrations étudiées	200	Oui
Di-2-ethylhexyl téréphtalate (DEHT)	6422-86-2	C ₂₄ H ₃₈ O ₄		Perfusion Transfusion	Non toxique aux concentrations étudiées	Données non disponibles	Données non disponibles
Di-isononylphthalate (DINP)	68515-48-0 (DINP 1), 28553-12-0 (DINP 2)	C ₂₆ H ₄₂ O ₄		Nutrition parentérale Perfusion Transfusion	0,1	15	Non/Oui
Diisononylcyclohexane-1,2-dicarboxylate (DINCH)	166412-78-8	C ₂₆ H ₄₈ O ₄		Nutrition entérale Perfusion	0,05	107	Non
Triocetyltrimellitate (TOTM)	3319-31-1	C ₃₃ H ₅₄ O ₆		Nutrition entérale et parentérale Hémodialyse Transfusion	Non toxique aux concentrations étudiées	100	Oui

Toutefois, les données de toxicité de ces plastifiants chez l'homme sont très peu nombreuses.

En 2006, le règlement REACH interdit l'utilisation de plus de 0,1% m/m de BBP dans les jouets et les articles de puériculture (42), ce plastifiant, comme le DEHP est classé CMR 1B compte tenu de sa toxicité sur la reproduction (56,57).

Dans le cadre du règlement REACH (42) 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 (58).

Le DEHA favoriserait la prolifération du peroxyosome chez l'homme (59,60). De plus, il semblerait avoir une toxicité sur le système reproductif et sur le développement embryofœtal. Toutefois, les données *in vitro* n'ont pas mis en évidence de toxicité du DEHA sur les cellules L929 aux concentrations étudiées, mais une toxicité de son métabolite primaire le mono-(2-ethylhexyl) adipate (MEHA) (55).

Le DEHT est l'isomère structurel en para du DEHP, il ne semble pas provoquer de tumeurs et possède un faible niveau de toxicité (61). Cette différence structurelle est essentielle en ce qui concerne le métabolisme et les effets toxicologiques. Des études ont montré que le DEHT ne provoquait pas de troubles endocriniens, ni de carcinogénicité (61,62). La toxicité *in vitro* du DEHT est équivalente à celle du TOTM et du DEHA et n'entraîne pas de diminution de la prolifération des cellules L929. En revanche, son métabolite primaire, le monoethylhexyle téréphtalate (MEHT), est plus toxique que la molécule mère (le DEHT). A 0,05 mg/mL, la toxicité *in vitro* du MEHT est proche de celle du monoisononylphtalate (MINP), MEHA et du cyclohexane-1,2-dicarboxylic mono isononyl ester (MINCH) (55).

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 (63). Le DINP a montré, *in vitro*, une toxicité cellulaire à partir de 0,1 mg/mL, son métabolite primaire, le MINP est plus toxique (55).

Chez les rats, le DINCH ne provoque pas de perturbation endocrinienne et ne semble pas être toxique pour la reproduction. Toutefois, après une exposition par voie orale à hautes doses chez le rat, il est associé à une hyperplasie thyroïdienne et à des signes de toxicités rénale et hépatique (64,65). David *et al.* (66) n'ont cependant pas mis en évidence de toxicité chez les rats, après une exposition au DINCH par voie intraveineuse. Le DINCH a été envisagé comme remplaçant potentiel du DEHP dans les poches de sang, mais l'étude menée par AuBuchon *et al.* (21) a montré que les globules rouges survivaient plus (24% de plus) dans les poches de PVC plastifié au DEHP que dans les poches plastifiées au DINCH. Le DINCH, *in vitro*, a une toxicité semblable à celle du DEHP et à son métabolite primaire le MINCH (55).

Le TOTM serait moins hépatotoxique que le DEHP chez les rats (43), 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 (44). Il a une toxicité hépatique plus faible (67) que le DEHP qui semble être liée à son métabolisme (68). Après une administration par voie injectable, 21% de la dose est retrouvée dans les fèces et 3% dans les urines pendant 14 jours, ce qui laisse supposer que le TOTM a une longue demi-vie et s'accumule dans les tissus (69). Le TOTM et son métabolite primaire, le monoocetyltrimellitate, ont montré *in vitro* une toxicité plus faible que les autres plastifiants, aucune diminution significative des cellules L929 n'est observée aux 3 concentrations étudiées (0,01 – 0,05 et 0,1 mg/mL) (55).

Afin de favoriser la substitution du DEHP par les plastifiants alternatifs, plusieurs paramètres importants sont à prendre en considération : la toxicité des plastifiants et de leurs métabolites qui vient d'être détaillée précédemment, mais également leur potentiel migratoire qui sera détaillé dans la suite de la thèse.

Cependant, compte-tenu du peu de données disponibles concernant la migration et la toxicité chez l'homme de ces plastifiants alternatifs, l'ANSM a financé le projet ARMED (Assessment and Risk Management of Medical Devices in plasticized polyvinylchloride) (70) lors de l'appel à projet de 2012 pour une durée de trois ans (2013-2015). Le projet, porté par le centre hospitalier universitaire (CHU) de Clermont-Ferrand est divisé en plusieurs axes et implique des partenaires à Nantes et à Lille (annexe 2). 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 CHU 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 SCENIHR (43,44). A l'issue de ce protocole de recherche non interventionnelle, les dosages des plastifiants et de leurs métabolites retrouvés dans les urines de patients sont effectués par chromatographie liquide couplée à une spectrométrie de masse (CL-SM), tandis que les taux de plastifiants retrouvés dans tous les dispositifs utilisés lors de cette étude sont évalués par une ou plusieurs des techniques développées dans l'axe 1. L'axe 3 est dédié aux études de cytotoxicité réalisées par l'équipe nantaise.

Les méthodes analytiques mises au point permettent la détection des plastifiants directement dans les DMs et/ou dans des éluats [sanguins (71), urinaires (39,72,73)]. Bernard *et al.* (28) 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 résonance magnétique nucléaire (RMN) (51), la FT-IR (74,75). Elles possèdent une bonne spécificité mais posent des problèmes de sensibilité, de durée d'analyse et de coût.

Parmi les méthodes indirectes, la chromatographie gazeuse (CG) et la chromatographie liquide haute performance (CLHP) sont les techniques les plus utilisées pour le dosage des plastifiants. La CG, couplée soit à la spectrométrie de masse (CG-SM), soit à un détecteur à ionisation de flamme (CG-FID) (76), 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 répandue et disponible dans les laboratoires de contrôle des pharmacies à usage intérieur (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 ultraviolet (UV) utilisée par Radaniel *et al.* (77) a permis la caractérisation de cinq plastifiants (ATBC, DEHP, DEHT, DINCH et 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.* (78). Elle permet la détection de l'ATBC, DEHA, DEHT et TOTM. L'utilisation d'une phase stationnaire en carbone graphitique poreux, en CLHP (79), a permis la séparation de cinq plastifiants (ATBC, DEHA, DEHP, DEHT et TOTM).

Genay *et al.* (51) et Gimeno *et al.* (53) 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.

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.* (80) ainsi que Genay *et al.* (51) 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.* (76) ont comparé trois techniques d'extraction. La première correspond à l'extraction Soxhlet® 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 (ACN). Radaniel *et al.* (77) 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.* (77) permet donc 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, puisque sa présence est interdite dans les DMS, il ne sera donc pas retrouvé sur le chromatogramme des échantillons. 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 11 représente la juxtaposition des chromatogrammes obtenus avec la technique analytique de Radaniel *et al.*

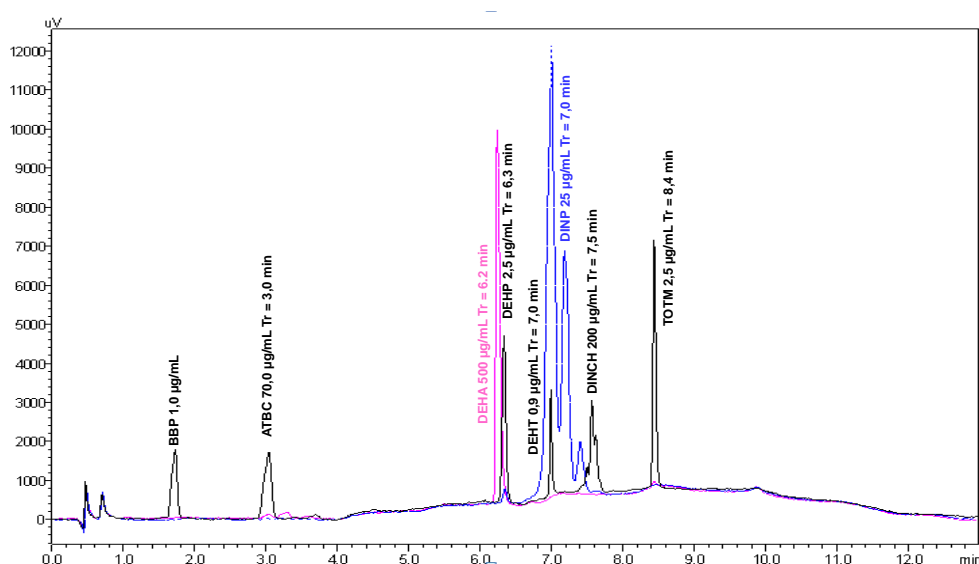


Figure 11 : Chromatogrammes illustrant les problèmes de co-élutions rencontrés par Radaniel *et al.* (77). Le chromatogramme noir représente l'élution des plastifiants analysés par Radaniel *et al.* ; le chromatogramme rose le DEHA seul et le chromatogramme bleu le DINP seul.

Ainsi, un des objectifs de la seconde partie expérimentale sera d'optimiser la méthode utilisée par Radaniel *et al.* afin de permettre i) le dosage des plastifiants contenus dans les DMs et ii) le dosage des plastifiants ayant migré dans la solution de simulant.

Actuellement, certaines industries pharmaceutiques se sont orientées vers le développement de «nouveaux plastifiants verts ». Nous pouvons citer à titre d'exemple les plastifiants verts à base d'isosorbide qui sont actuellement testés en laboratoire afin de savoir s'ils pourront un jour être utilisés comme substitution des plastifiants alternatifs au DEHP (81).

c. Des alternatives au PVC ?

Comme nous venons de le détailler précédemment, les données actuelles sur les plastifiants alternatifs ne sont pas suffisantes pour permettre d'attester une utilisation sans risque pour les patients. Ainsi, une autre alternative serait de délaisser complètement le PVC pour s'orienter vers d'autres polymères. Toutefois, ce choix n'est pas sans conséquence pour des établissements de soins compte tenu de l'augmentation non négligeable du prix d'achat de ces DMs sans PVC.

Un rapport publié en 2015 par « Health Care Without Harm Europe » (82) sur les alternatives aux phtalates et au bisphénol A contenus dans les DMs, rapporte que plus de 40% des DMs en plastique utilisés actuellement dans les services de soins sont en PVC.

Plus localement, plusieurs recensements ont également été réalisés dans le service de réanimation néonatale du CHU de Lille en 2009, 2014 et 2017. L'objectif de ce travail était d'étudier l'évolution de l'utilisation du PVC et des plastifiants dans les DMs destinés à la perfusion et l'administration des nutritons entérales et NP depuis 8 ans. Au total, 83 DMs de perfusion, 42 de nutrition entérale et 8 de NP ont été recensés. Le pourcentage de DMs de perfusion recensés en PVC a diminué au cours des années. En effet, les auteurs en ont recensés respectivement 26% – 24% – 13% en 2009 – 2014 – 2017. Le pourcentage des DMs de nutrition entérale en PVC a également diminué : respectivement 64% – 53% – 50% en 2009 – 2014 – 2017. Tous les DMs de NP étaient cependant encore en PVC en 2017 (figure 12).

Ce travail montre que, bien que de moins en moins utilisé au cours des années, le PVC reste encore un matériau très présent dans les services de soins. Ce travail que j'ai dirigé en 2017 a fait l'objet d'une communication écrite lors du 17^{ème} congrès de la Société Française de Pharmacie Clinique (SFPC) (83).

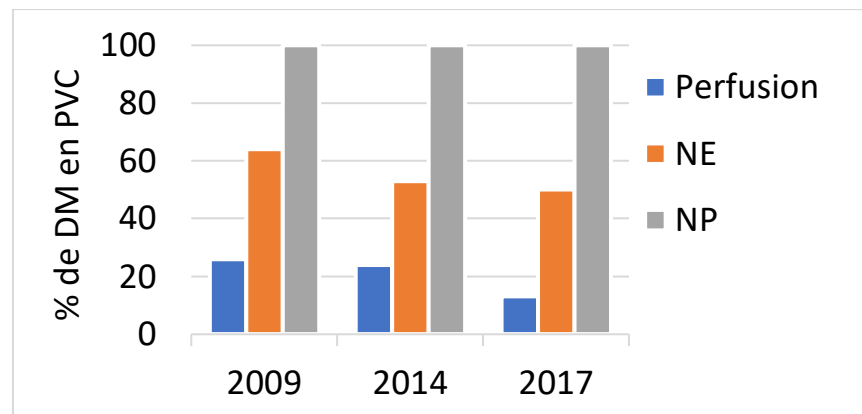


Figure 12 : Évolution du pourcentage de dispositifs médicaux de la perfusion, nutrition entérale et nutrition parentérale présents dans le service de réanimation néonatale du CHU de Lille en 2009, 2014 et 2017, d'après Masse *et al.* (83).

NE : nutrition entérale, NP : nutrition parentérale

Ainsi, d'autres matériaux comme le PE, le PUR, le silicone, les matériaux co-extrudés (PE/PVC) ou multicouches (PE/EVA/PVC) peuvent être utilisés pour remplacer le PVC et par conséquent empêcher l'exposition des patients aux plastifiants. Toutefois, le choix d'autres matériaux que le PVC n'est pas toujours possible, en particulier en termes de coût et d'isotechnicité. Les principaux matériaux utilisés dans les DMs de perfusion sont détaillés dans la suite de ce paragraphe.

i. Le polyéthylène

Le PE est un matériau thermoplastique semi-cristallin, translucide, facile à manier et résistant au froid. Il appartient à la famille des polyoléfinés et est obtenu par la polymérisation des monomères d'éthylène. Il existe différents types de PE linéaires ou ramifiés qui peuvent être classés selon leur densité [très basse densité, basse densité, densité moyenne, haute densité] et leur masse molaire [très basse, élevée ou très élevée]. Certains PE peuvent être modifiés par des réactions de polymérisations, c'est le cas des PE réticulés (PE-qui sont la plupart du

temps produits à partir de PE haute densité). Ces PE réticulés ont des caractéristiques se rapprochant de celles observées pour les PE de masse molaire très élevée.

Les PE haute densité sont utilisés pour la production de conditionnements rigides et les PE basse densité pour la production de films souples, comme pour la fabrication des poches de perfusion.

La Tg dépend du type de PE, mais elle généralement très basse, aux alentours de -100°C. Le PE possède une grande stabilité chimique. Lorsque la température est inférieure à 60°C, il est pratiquement insoluble. Il est résistant aux acides (sauf aux oxydants), aux bases et est insoluble dans l'eau, d'où son utilisation dans l'alimentaire. En revanche, ce polymère est sensible à l'état naturel aux UV en présence d'oxygène. Ainsi, pour contrer cet inconvénient, des stabilisants sont ajoutés qui peuvent être de 3 types : des pigments absorbant les radiations UV (par exemple le dioxyde de Titane), des additifs neutralisant l'action des UV et des anti-oxydants stabilisants.

Dans le domaine médical, le PE présente les avantages, à la différence du PVC, de ne pas comporter de plastifiants et d'être inerte aux interactions avec les médicaments grâce à sa structure semi-cristalline. En revanche, sa rigidité plus importante que celle du PVC rend son utilisation difficile pour les perfuseurs par gravité. En effet, ces derniers possèdent des régulateurs de débit qui écrasent la tubulure en fonction du débit souhaité. Ainsi, le PE ne peut être utilisé dans ce type de DMs car il est trop rigide pour que les régulateurs écrasent la tubulure. De plus, le PE maintient mieux le débit de perfusion imposé par un PSE que le PVC et est moins compliant c'est-à-dire qu'il est moins déformable à la pression exercée par un liquide qui traverse la tubulure (6).

ii. Le co-extrudé et les multicouches

La co-extrusion (figure 13) consiste à mettre plusieurs fluides simultanément dans une même filière, le produit obtenu est ainsi composé de plusieurs couches et appelé multicouches. La superposition des couches permet de conférer au produit final des propriétés spécifiques que chaque couche prise individuellement ne permet pas d'obtenir.

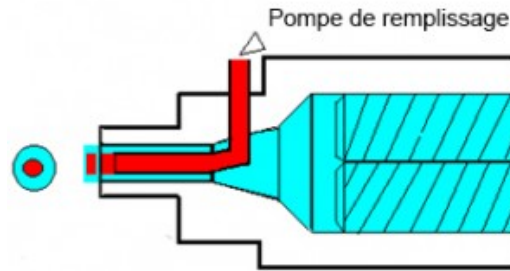


Figure 13 : Principe de la co-extrusion.

Dans notre cas, le co-extrudé (figure 14) est composé de PVC dont la surface interne est recouverte d'une fine couche de PE, qui sera au contact de la solution médicamenteuse perfusée.

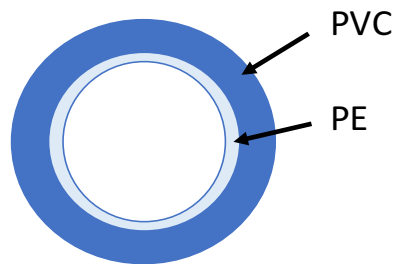


Figure 14 : Composition d'un polymère co-extrudé PE/PVC.

PVC : polychlorure de vinyle, PE : polyéthylène.

Les avantages de ce matériau sont nombreux puisqu'il associe ceux du PE et du PVC. En effet, grâce à cette fine couche de PE, la partie au contact des solutions médicamenteuses est inerte aux interactions de type sorption avec les PA et permet également partiellement d'éviter la migration des plastifiants du PVC dans la solution médicamenteuse. La présence de PVC en couche souvent épaisse rend quant à elle la fabrication de ces DMs moins coûteuse que s'ils étaient entièrement fabriqués seulement en PE. De plus, ce sont des DMs plus souples que ceux en PE, de par la présence de plastifiants dans le PVC. Le PVC étant en couche épaisse, la majorité des propriétés du PVC sont retrouvées dans ces dispositifs, toutefois la fine couche de PE permet de limiter ces interactions contenu-contenant.

L'EVA est également utilisé dans la fabrication des poches de perfusion en multicouches, c'est un matériau souple (la Tg est supérieure à la température ambiante). Il est peu sujet à la sorption avec les PA, seules deux études mettent en évidence une diminution de la

concentration de PA avec l'EVA (84,85). Toutefois, ce matériau est perméable et ne peut pas être utilisé pour la NP, comme nous le verrons par la suite.

Pour les DMs co-extudés ou en triple couche (PE/EVA/PVC), bien qu'une couche de PE soit présente entre le PVC et la solution médicamenteuse, les plastifiants migrent quand même. Toutefois, les concentrations de plastifiants ayant migré sont inférieures à celles du PVC (86,87).

iii. Le polyuréthane

Les PUR sont formés par la réaction de polyaddition entre des polyisocyanates avec des polyols avec un extenseur de chaîne (polyol ou polyamine) permettant d'avoir des chaînes souples et des chaînes rigides au sein du matériau.

Cette famille regroupe des matériaux très variés selon la nature des matières premières utilisées et des extenseurs de chaîne. Par exemple, la réaction entre un di-isocyanate et un di-alcool forme un polymère linéaire thermoplastique. *A contrario*, un di-isocyanate et un tri-alcool donnent un polymère tridimensionnel thermodurcissable. Ainsi, les PUR ont des natures chimiques variables et des propriétés différentes entre eux. La longueur des chaînes du polyol et le poids moléculaire de celui-ci conditionne la rigidité du PUR. En effet, le matériau sera d'autant plus rigide que les chaînes seront courtes, et il sera d'autant plus souple que les chaînes seront longues. D'une manière plus générale, tous les PUR présentent une très bonne résistance à l'abrasion, déchirure, chimique et au froid ainsi qu'une résistance limitée aux UV. Toutefois, comme le PVC, ce polymère est également sujet aux interactions avec les médicaments (88,89). La sorption avec le PVC et certains types de PUR semblent similaires. Par exemple, la perte de diazépam (DZP) avec des prolongateurs en PUR peut atteindre 50% et celle du dinitrate d'isosorbide (DNIS) 20% en fin de perfusion (88).

iv. Le silicone

Les silicones font partie de la famille très large des caoutchoucs. Leur structure chimique est composée de silicium, d'oxygène et de différents groupements (méthyle, vinyle...). Il en existe plusieurs types : ils se distinguent par la mise en œuvre [fluides (huiles, émulsions, gommés, pâtes), résines et élastomères] et par le type de réticulation (à chaud et à froid). La T_g est inférieure à -100°C , ils sont donc souples à température ambiante. Ils présentent une bonne résistance à la chaleur, au vieillissement, aux UV et sont biocompatibles. Ils sont très utilisés

dans le domaine médical, notamment dans les DMs d'implantation de longue durée (cathéters, sondes urinaires...). En revanche, ils présentent certaines incompatibilités comme par exemple avec l'éthanol 95% (90) et interagissent avec certains médicaments (midazolam) (91) et conservateurs (92) (tels que le métacrésol, le phénol et l'alcool benzylique).

Bien qu'il existe d'autres matériaux pouvant être utilisés dans la fabrication des DMs de perfusion, le PVC reste encore très présent dans ce domaine. Toutefois, comme nous le verrons dans la partie suivante, celui-ci pose deux problématiques majeures avec les PA d'une part, et par la présence des plastifiants d'autre part, qui sont pour certains des molécules CMR comme nous l'avons abordé précédemment.

II. Les interactions contenu-contenant

La perfusion des médicaments sur une longue durée nécessite une bonne stabilité des médicaments à injecter. En effet, des études de stabilité doivent être menées en tenant compte des modalités de reconstitution de la spécialité pharmaceutique commerciale, des modalités d'administration mais aussi de la durée et des modalités de conservation (congélation, réfrigération, température ambiante, lumière...) dans les unités de soins ou dans les PUI des préparations reconstituées. Ces études ont un double objectif, puisqu'elles permettent non seulement de s'assurer que le PA ne se dégrade pas mais aussi de vérifier qu'au cours de l'étude des produits de dégradation n'apparaissent pas (93). Il est également important de s'assurer du maintien de la formulation galénique, à savoir le PA et ses excipients, tout au long de l'étude de stabilité. En effet, les excipients ont des rôles particuliers (conservateurs antimicrobiens, antioxydants, isotonisants, régulateurs de pH...) qui doivent être conservés tout au long de l'utilisation des médicaments.

La stabilité des médicaments peut également être influencée par les interactions contenu-contenant. En effet, il est notoire que lors de la perfusion, des échanges ou interactions physico-chimiques peuvent se produire entre le fluide médicamenteux (le médicament ou la NP) et le matériau du DM. Ces interactions peuvent être de la sorption (adsorption et absorption), de la migration de composés issus du matériau du DM ou de la perméation de

composés. Les interactions dépendent donc de plusieurs facteurs : du contenant et du contenu.

Concernant le contenant, les facteurs sont :

- La nature du polymère utilisé : il est décrit dans la littérature que le PE [sur la base de données Stabilis, seule une étude a mis en évidence une diminution de la concentration de l'insuline avec du PE (94)] ou le verre (95,96) sont des matériaux inertes vis-à-vis des interactions contenu-contenant. En revanche, le PVC et le PUR sont des polymères qui interagissent beaucoup plus avec les médicaments.
- La composition du polymère : qui peut contenir des additifs. L'exemple le plus connu est celui du PVC et des plastifiants. Il est décrit que, selon le type et la concentration de plastifiant contenu dans le polymère, la sorption avec les médicaments peut-être différente (97). Tous les plastifiants semblent avoir une sorption similaire mais il semblerait qu'avec le DINCH celle-ci soit plus élevée. De plus, plus la concentration en plastifiants est élevée, plus la sorption est importante. La concentration de DZP après 100 heures d'incubation est supérieure à 35 mg/mL avec le PVC plastifié au DEHP 10% (m/m) alors qu'elle n'est seulement de 20 mg/mL avec du DEHP 70% (m/m).
- Le procédé de stérilisation : Foinard *et al.* (88) ont trouvé des différences de profils de sorption du DZP entre deux prolongateurs de PVC qui avaient subi deux modes de stérilisation différents (rayons gamma et oxyde d'éthylène). D'autres auteurs ont conclu que la stérilisation par les rayons gamma pourrait entraîner une modification de la structure chimique du PVC, augmenter ainsi la réticulation des chaînes de PVC et diminuer les phénomènes de sorption des PA (98,99).

En ce qui concerne le contenu, les interactions dépendent des propriétés physico-chimiques du PA et de ses excipients.

- La lipophilie/l'hydrophilie : les médicaments les plus lipophiles sont les plus sujets aux interactions contenu-contenant (84). Ainsi, le coefficient de partage P (Log P) d'un médicament est un facteur majeur qui peut expliquer la sorption du médicament avec les polymères (figure 15). Le Log P est égal au rapport des concentrations du soluté étudié dans deux phases non miscibles, une phase

correspond à une phase aqueuse et la seconde à une phase lipidique comme, par exemple, de l'octanol (car proche de la membrane biologique). Si le $\text{Log P} > 0$, le médicament est dit lipophile, en revanche si le $\text{Log P} < 0$, le médicament est dit hydrophile.

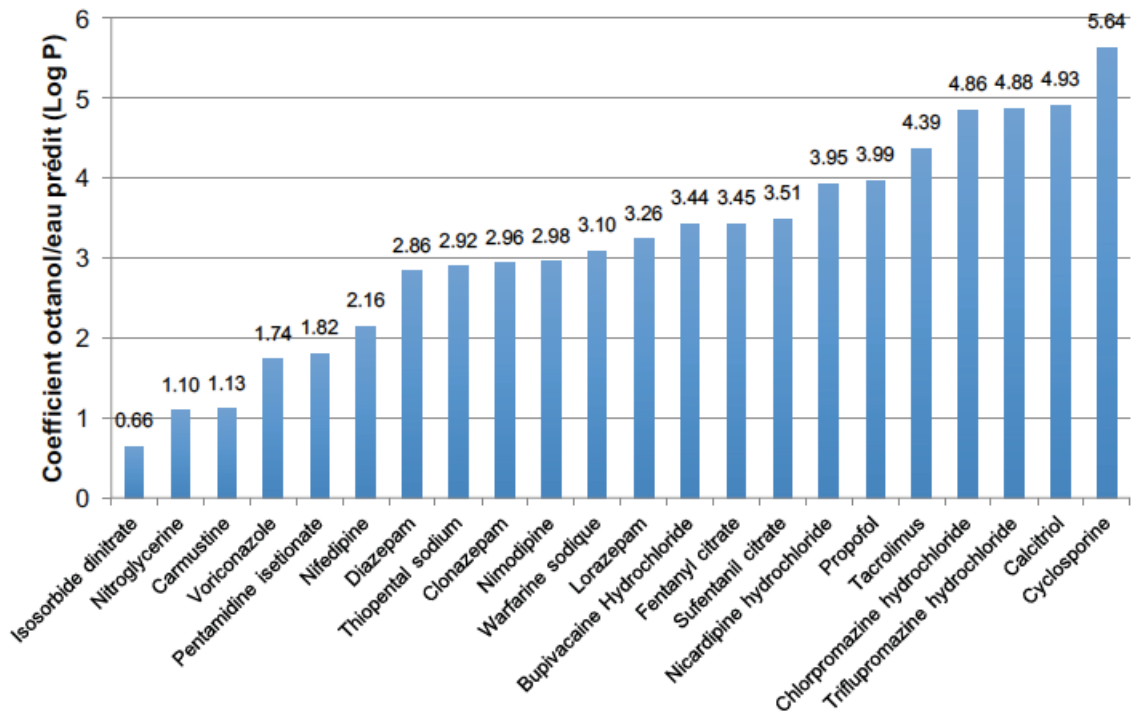


Figure 15 : Coefficients de partage octanol/eau prédits des molécules présentant des risques d'ad/absorption lors d'un conditionnement en PVC (synthèse des données disponibles sur la base de données Stabilis) (100).

- La température : plus la température est élevée, plus le risque de migration des additifs et en particulier des plastifiants est important (101). Par exemple, à 5°C, la concentration de DEHP ayant migré est de 20 µg/mL, tandis qu'à 37°C elle est supérieure à 50 µg/mL. C'est pour cela que les nouveau-nés qui sont dans les couveuses à 37°C sont très exposés aux plastifiants.
- Le temps de contact : plus le temps de contact est important, plus la sorption et la migration sont importantes (97). En effet, *in vitro*, le DEHP migre 1,5 fois plus entre 24 heures et 10 jours d'incubation. En revanche, pour les autres plastifiants, la migration des plastifiants est similaire quel que soit le temps de contact (102).
- Le débit de perfusion : plus le débit de perfusion est faible, plus la sorption (103) et la migration (86) sont importantes. Le pourcentage d'insuline adsorbée sur le PVC après

200 minutes de perfusion est d'environ 45% à 0,1 mL/h, tandis qu'il est d'environ 30% à 0,5 mL/h (103). Bernard *et al.* (86) ont trouvé des quantités de DINP libéré de 17610 µg, 6872 µg et 9961 µg pour des débits de perfusion de 20 mL/h, 50 mL/h et 100 mL/h respectivement.

La maîtrise des interactions entre les préparations médicamenteuses parentérales et les DMs est donc primordiale au bon déroulement de l'acte thérapeutique. En effet, ces interactions peuvent avoir des conséquences délétères directes pour le patient (104). Une première conséquence de santé publique avec l'utilisation du PVC est la migration des plastifiants qui, comme décrits précédemment, sont potentiellement toxiques pour l'homme, certains étant classés comme des substances CMR. La seconde conséquence est la sorption qui peut conduire à une diminution de la dose administrée au patient : comme le PA reste à la surface du polymère (dans le cas de l'adsorption), le patient ne recevra donc pas la totalité de la dose initialement prescrite. Ceci est particulièrement problématique pour les médicaments dits « à marge thérapeutique étroite » comme nous le verrons par la suite avec l'exemple de l'insuline.

1. Les phénomènes de migration du contenu vers le contenant

a. Généralités

Ces phénomènes de migration du contenu vers le contenant aboutissent à une diminution de la concentration du PA lors de son administration ou de sa conservation. Ceci conduit à sous-exposer les patients au PA et par conséquent à un sous-dosage médicamenteux. Le PA peut être retenu au niveau de la surface du DM (adsorption) ou dans les couches du polymère (absorption), le PA peut également traverser toutes les couches du polymère, il s'agit alors du phénomène de perméation (figure 16).

L'adsorption est un phénomène réversible où le nombre de sites de fixation sur le matériau est limité. Les liaisons entre le liquide (la solution médicamenteuse) et le solide (le matériau) sont faibles. Les phénomènes d'absorption et de perméation sont irréversibles, la concentration initiale de PA ne sera jamais retrouvée.

En pratique, ces phénomènes conduisent à une perte de PA et il n'est pas toujours simple d'identifier le phénomène impliqué dans une diminution de concentration.

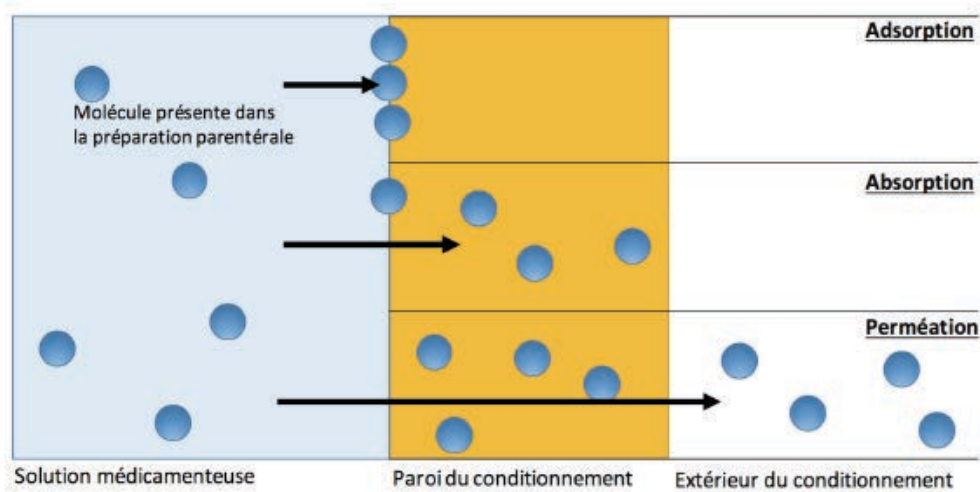


Figure 16 : Représentation schématique des phénomènes d'adsorption, d'absorption et de perméation.

Toutefois, il n'y a pas que le PA qui puisse subir ces phénomènes. En effet, certains excipients peuvent aussi être affectés : citons le phénol et le métacrésol, utilisés comme conservateurs de l'insuline, en présence de tubulures en PUR (105) ou en PVC (106), mais aussi les tensioactifs avec le PVC (107).

La littérature sur ces phénomènes de sorption est riche et décrit plusieurs PA [par exemple le DZP, le DNIS (88), le tacrolimus (108), la nitroglycérine (84,109)] subissant ce type d'interactions avec différents polymères [tels que le PVC (110,111), le PUR (88,89), le silicone (92)]. Notre polymère d'intérêt étant le PVC, nous nous focaliserons essentiellement sur les interactions de celui-ci avec les PA, et plus particulièrement avec l'insuline et le DZP.

b. Interactions entre les matériaux et l'insuline

L'insuline humaine est un polypeptide de 6 000 Daltons constitué de deux chaînes d'acides aminés reliées par deux liaisons disulfures : la chaîne A est constituée de 21 acides aminés et la chaîne B de 30 acides aminés (112,113) (figure 17).

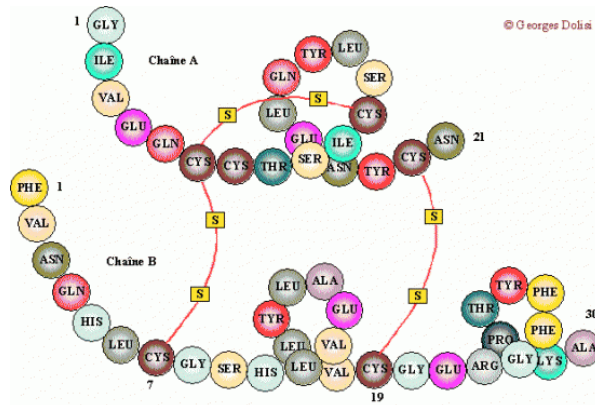


Figure 17 : Représentation de la structure protéique de l'insuline humaine, d'après (112).

L'insuline est une hormone hypoglycémique sécrétée par le pancréas. En solution, elle peut exister sous quatre conformations différentes : des monomères, des dimères, des tétramères ou des hexamères (114). Dans les différentes spécialités pharmaceutiques existantes (Novorapid®, Umuline rapide®...), l'insuline est sous forme hexamérique, car cette conformation est décrite comme étant la plus résistante à la fibrillation et à la dégradation (115). Pour la conserver sous cette forme hexamérique des conservateurs phénoliques, le phénol et/ou le métracrésol (figure 18) sont ajoutés (116,117).

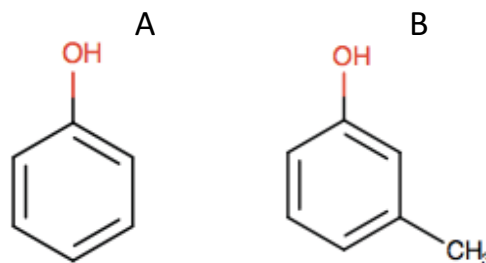


Figure 18 : Structure chimique (A) du phénol et (B) du métracrésol.

Une fois injectée dans la circulation sanguine, les hexamères se dissocient en monomères qui sont la seule forme active de l'insuline pour se lier ensuite aux récepteurs de l'insuline (118). De plus, l'insuline monomérique diffuse beaucoup plus rapidement dans l'organisme (119) (figure 19).

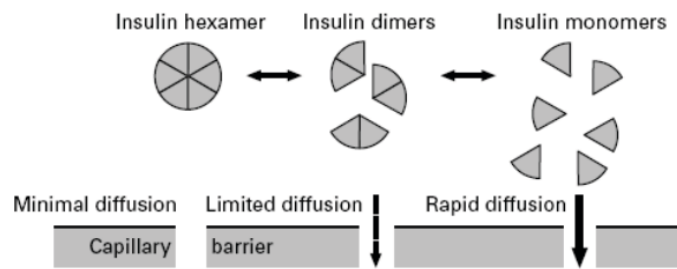






Figure 19 : Diffusion de l'insuline dans l'organisme d'après Holleman *et al.* (119).



Ce médicament est prescrit pour contrôler notamment un dysfonctionnement de la régulation glycémique : hypo- ou hyperglycémie pour le traitement du diabète de type 1 et 2. L'insuline peut également être utilisée pour le traitement du diabète gestationnel chez les femmes enceintes (120), pour le traitement des hyperkaliémies mais également après une chirurgie en post-opératoire.

L'insuline est un médicament à marge thérapeutique étroite. En effet, un sous-dosage d'insuline peut produire une hyperglycémie et une acidocétose pouvant conduire au coma et au décès. Ali *et al.* (121) ont démontré que chez les patients atteints de leucémie myéloïde aiguë, l'hyperglycémie à l'hôpital est corrélée à la mortalité. Un surdosage en insuline peut provoquer une hypoglycémie pouvant également entraîner le coma et le décès. Ainsi, la prescription et l'administration d'insuline sont primordiales dans la prise en charge des patients.

Il existe différentes catégories de solutions d'insuline en fonction de leurs délai et durée d'action, par exemple on distingue les insulines rapides (insuline asparte, insuline lispro, insuline glulisine) et celles qui ont une action prolongée (insuline glargine, insuline détémir). Le tableau 4 regroupe les différentes insulines disponibles en France et sont classées selon leur durée d'action.

Tableau 4 : Liste des différentes insulines disponibles en France selon leur délai et durée d'action.

Insuline	DCI - Spécialités	Délai d'action	Durée d'action
Action ultra-rapide 	Insuline asparte NovoRapid® 100 UI/mL	5 minutes	+/- 3 heures
	Insuline glulisine Apidra® 100 UI/mL		
	Insuline lispro Humalog® 100 UI/mL		
Action rapide 	Insuline humaine Actrapid® Insuman Infusat® Umuline®Rapide	20 minutes	4 à 6 heures
Action semi-lente 	Insuline humaine isophane (NPH) Insulatard® Umuline®NPH	1 heure	Environ 20 heures
Action lente 	Insuline glargine Lantus® 100UI/mL Abasaglar® 100UI/mL	2 heures	Jusqu'à 24 heures
	Insuline glargine Toujeo® 300UI/mL	2 heures	Jusqu'à 36 heures
	Insuline détémir Levemir® 100UI/mL	1 heure 30	12 à 18 heures selon la dose
	Insuline dégludec Xultophy® 100UI/mL Tresiba® 100UI/mL	2 heures	Environ 24 heures

<p>Action mixte : ultra-rapide + semi-lente</p> 	<p>Insuline asparte 30 (30% d'insuline rapide + 70 % d'insuline asparte protamine cristallisée) NovoMIX®30</p>	10 à 20 minutes	Jusqu'à 24 heures
	<p>Insuline asparte 50 (50% d'insuline rapide + 50 % d'insuline asparte protamine cristallisée) NovoMIX®50</p>	10 à 20 minutes	14 à 24 heures
	<p>Insuline asparte 70 (70% d'insuline rapide + 30 % d'insuline asparte protamine cristallisée) NovoMIX®70</p>	10 à 20 minutes	14 à 24 heures
	<p>Insuline lispro (25% d'insuline rapide + 75% d'insuline lispro protamine) Humalog MIX® 25</p>	15 minutes	Environ 15 heures
	<p>Insuline lispro (50% d'insuline rapide + 50% d'insuline lispro protamine) Humalog MIX®50</p>	15 minutes	Environ 15 heures
<p>Action mixte : rapide + semi-lente</p> 	<p>Insuline humaine 30 (30% d'insuline rapide) Mixtard®30 Umuline®Profil 30</p>	30 minutes	20 à 24 heures

Des analogues de l'insuline humaine, dérivées du génie génétique sont élaborés pour modifier la cinétique et la solubilité de l'insuline. La Novorapid® est un analogue de l'insuline et est constituée d'insuline asparte (100 UI/mL) et de deux conservateurs phénoliques : le phénol (1,50 mg/mL) et le méta-crésol (1,72 mg/mL). L'insuline asparte diffère de l'insuline humaine par une substitution de la proline par un acide aspartique, en position 28 de la chaîne B (122).

Actuellement, l'insuline humaine est de moins en moins prescrite au profit de ces analogues. En effet, plusieurs études ont montré que l'utilisation des analogues de l'insuline par rapport à l'insuline humaine permettait de diminuer les hypoglycémies et d'obtenir un meilleur contrôle de l'insuline basale. Kristensen *et al.* (123) ont réalisé une étude clinique pour comparer les effets cliniques des analogues de l'insuline (insuline detemir et insuline asparte) et de l'insuline humaine (protamine neutre Hagedorn (NPH) et régulière). Ils ont conclu que l'analogue de l'insuline permettait de réduire significativement l'épisode d'hypoglycémie nocturne. Rys *et al.* (124) ont également montré que pour les patients diabétiques de type 1, le traitement avec l'insuline asparte permettait un meilleur contrôle métabolique et plus de satisfaction thérapeutique que l'insuline humaine.

L'insuline peut être administrée soit par injection sous-cutanée avec environ trois injections directes par jour, soit par perfusion continue avec une pompe à perfusion pendant 24 heures ou par des pompes externes (125).

Après une chirurgie, l'insuline est majoritairement prescrite en perfusion continue sur 24 heures, à l'aide de prolongateurs et de PSE. A l'hôpital, les patients peuvent avoir des perfusions en continu d'insuline sans qu'ils ne soient forcément diabétiques. En effet, un lien a été montré entre la survenue d'une hypoglycémie et la mortalité chez les patients gravement malades (126).

Lorsque l'insuline est prescrite pour le traitement des diabétiques, le schéma « basal-bolus » (figure 20) est couramment utilisé car il respecte la physiologie de la sécrétion de l'insuline c'est-à-dire une sécrétion permanente d'insuline accompagnée de pics prandiaux. En effet, la sécrétion basale (schéma basal) permanente est apportée par l'insuline lente et le pic de sécrétion (schéma bolus) au moment des repas par l'insuline rapide pour pallier à l'hyperglycémie lors des repas (127).

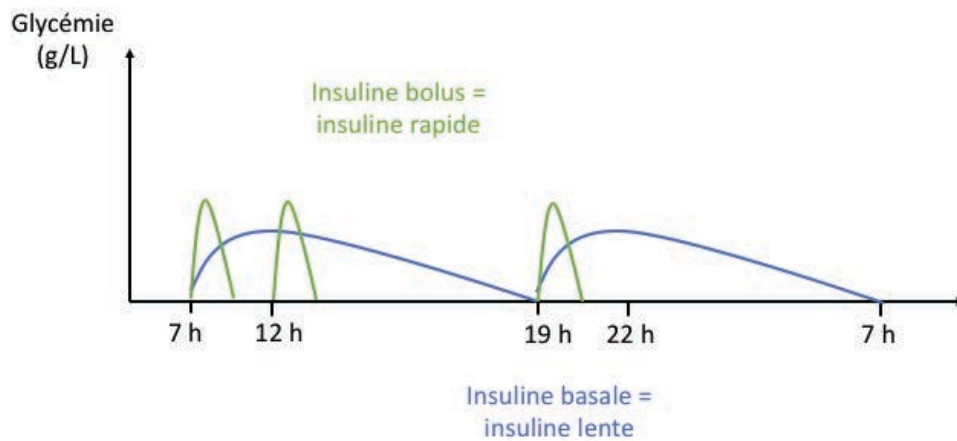


Figure 20 : Schéma d'insulinothérapie en « bolus-basal ».

Toutefois, plusieurs études ont décrit les interactions entre l'insuline et les matériaux des prolongateurs de perfusion.

Zahid *et al.* (103) ont montré par une méthode de spectrophotométrie-UV que l'Actrapid® (insuline humaine rapide) à 1 UI/mL perfusée à un débit de perfusion de 0,5 mL/h était adsorbée en début de perfusion sur des tubulures de PE (environ 15%) et de PVC (environ 35%). L'adsorption d'insuline était influencée par le débit de perfusion, la composition des tubulures et la surface de contact.

De même, Hewson *et al.* (128) ont mené une étude sur l'adsorption de l'Actrapid® sur une tubulure de PVC plastifié au DEHP dans un service clinique de néonatalogie. L'insuline a été dosée par radio-immunodosage. Les auteurs ont conclu que l'insuline était adsorbée sur le PVC et que cette adsorption était majorée par de faibles concentrations et de faibles débits, ce qui est le cas des pratiques des services de néonatalogie.

Fuloria *et al.* (129) ont réalisé une étude similaire avec de l'insuline humaine régulière (Novolin®, Novo Nordisk, La Défense, France) et des tubulures de perfusion en PVC et en PE. Ils ont conclu que les épisodes d'hypoglycémie observés chez les nourrissons de très faible poids de naissance après plusieurs heures de perfusion d'insuline étaient dus à un excès d'insuline perfusée après la saturation des sites de fixation présents le long des tubulures. L'adsorption de l'insuline lispro et de l'insuline humaine régulière a été étudiée avec des dispositifs de perfusion en PVC et des seringues en polypropylène (130). Le profil d'adsorption est le même pour les deux insulines. L'insuline lispro et le métacrésol sont adsorbés après 5 heures sur une poche et sur l'ensemble des tubulures en PVC. L'utilisation d'un filtre en ligne

sur la ligne de perfusion n'est pas recommandée car de l'insuline est retenue à la surface de celui-ci.

Certaines études ont décrit des stratégies pour réduire la sorption de l'insuline. Pour minimiser la sorption entre l'insuline et les matériaux, Fuloria *et al.* (129) ont utilisé une solution d'insuline à 5 UI/mL pour saturer les sites de fixation sur la tubulure. Ainsi, après 1 heure à 0,2 mL/h, le taux d'insuline récupéré était de 22% (soit 78% adsorbée) pour les tubulures en PVC non saturées et de 42% (soit 58% adsorbée) pour les tubulures en PVC saturées. Hewson *et al.* (128) ont dilué de l'albumine à 2,4g% dans du SSI avec de l'insuline pour réduire l'adsorption du médicament sur le cathéter. L'albumine a permis une augmentation de 61% d'insuline administrée au patient au cours des 6 premières heures de perfusion.

Bien que toutes ces stratégies soient rarement utilisées dans les hôpitaux, il est important de tenir compte des interactions entre les médicaments et les matériaux des lignes de perfusion. Toutefois, ces études de sorption sur l'insuline concernent principalement l'insuline humaine. À notre connaissance, aucune étude n'existe sur l'insuline asparte, bien qu'elle représente la formule d'insuline la plus couramment utilisée dans les services cliniques pour la perfusion continue. De plus, les interactions avec les tubulures en matériaux coextrudés (PE/PVC) n'ont pas été suffisamment étudiées bien que ce matériau soit largement et de plus en plus utilisé. C'est pourquoi, nous avons étudié les interactions entre les deux types d'insuline (humaine et asparte) avec le PVC, PE et le coextrudé (PE/PVC). Ce travail fait l'objet de la première partie expérimentale.

c. Interactions entre les matériaux et le diazépam

Le DZP est sans doute la molécule sujette à la sorption la plus décrite dans la littérature. Cette molécule, dont la structure chimique est représentée dans la figure 21, est lipophile (Log P = 2,86). Elle fait partie de la famille des benzodiazépines et est commercialisée sous forme de comprimés, gel rectal et solution injectable.

Le DZP est couramment indiqué dans les services de soins : i) dans le traitement symptomatique des manifestations anxieuses sévères et/ou invalidantes, ii) en prévention et

traitement du *delirium tremens* et des autres manifestations du sevrage alcoolique (131). Le DZP peut être administré par différentes voies : orale, rectale et intraveineuse en cas d'urgence vitale, par exemple lors d'une crise d'épilepsie (132,133).

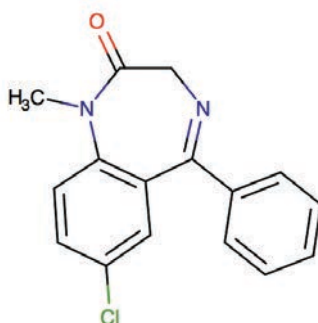


Figure 21 : Structure chimique du diazépam.

Maiguy-Foinard *et al.* (88) ont étudié la sorption du DZP au travers de huit prolongateurs double voies dont la longueur est comprise entre 5 et 12 cm avec un diamètre interne compris entre 0,7 et 1,5 mm. Cinq d'entre eux étaient en PUR, deux étaient en PVC et un en co-extrudé PE/PVC. Les auteurs ont conclu que le DZP était le moins adsorbé sur le PE/PVC (14,4% de DZP adsorbé à la fin de la perfusion). Les résultats avec le PUR étaient variables selon les fabricants. En effet, les PUR, bien qu'ayant des compositions chimiques identiques, peuvent avoir des degrés de polymérisation et de réticulation différents. De plus, certains PUR sont thermoplastiques entraînant une sorption importante alors que d'autres PUR sont thermodurcissables entraînant une sorption moindre. Les résultats obtenus pour le PVC étaient également différents selon les fabricants : en effet, avec le prolongateur de ICU Médical, 22,11% de DZP était adsorbé contre 40,01% pour celui de Carefusion. Ces différences sont dues au mode de stérilisation, soit par de l'oxyde d'éthylène (pour le prolongateur Carefusion), soit par des radiations γ (pour le prolongateur ICU Médical). En effet, les radiations γ peuvent modifier la structure chimique et provoquer une réticulation qui pourrait diminuer la sorption des PA (98,99).

Jin *et al.* (134) ont également étudié la sorption du DZP au travers de tubulures d'administration en PVC, PUR et en polypropylène. Les conclusions de ces travaux sont similaires à ceux de Treleano *et al.* (84) et de Maiguy-Foinard *et al.* (88). La sorption était plus

importante (environ 60%) en début de perfusion qu'en fin de perfusion (30%). La sorption du médicament est également plus importante lorsqu'il est dilué à 0,04 mg/mL qu'à 0,1 mg/mL. Kambia *et al.* (135) ont également mesuré 50% de perte de DZP après 24 heures d'étude, lorsque celui-ci était conservé dans des poches en PVC et dilué à 0,04 mg/mL dans du glucose 5% ou SSI.

2. Les phénomènes de migration du contenant vers le contenu

Les exemples précédents concernaient les phénomènes de migration du contenu (la solution médicamenteuse) vers le contenant (le polymère du DM), passons à présent à la migration des éléments constitutifs du polymère dans la solution médicamenteuse. Deux phénomènes de migration seront décrits dans cette partie : la désorption et la perméation.

a. Désorption

La désorption correspond à une extraction de composés additifs contenus dans le polymère aboutissant à une contamination chimique de la solution médicamenteuse en contact avec le polymère (figure 22). L'exemple le plus connu est celui des plastifiants dans le cadre du PVC (136) mais elle peut également se produire avec du PUR ou du silicone (137). Ces additifs sont plus particulièrement extraits dans le cas des émulsions (NP (71)), des solutions contenant des agents tensioactifs, de médicaments lipophiles (taxanes, étoposide...) (138).

Pour estimer la migration des plastifiants *in vitro*, plusieurs solutions sont décrites dans la littérature : des solutions lipidiques, le sang et le mélange eau/éthanol. Toutefois, l'estimation de la migration avec le sang est complexe car selon la composition du sang, qui est propre à chaque personne, les résultats peuvent être différents. Par exemple, un sang riche en cholestérol et en triglycérides peut extraire plus de DEHP qu'un sang qui en contient moins (139).

Les produits libérés peuvent avoir une toxicité directe, comme c'est le cas par exemple du DEHP. Ils peuvent aussi entraîner des réactions croisées pouvant conduire à une inactivation ou à une dégradation du PA ou des excipients. Les produits libérés peuvent également être

responsables d'effets physico-chimiques mais sans impact direct pour le PA et ses excipients. Enfin, ces produits peuvent également provenir de la dégradation du matériau.

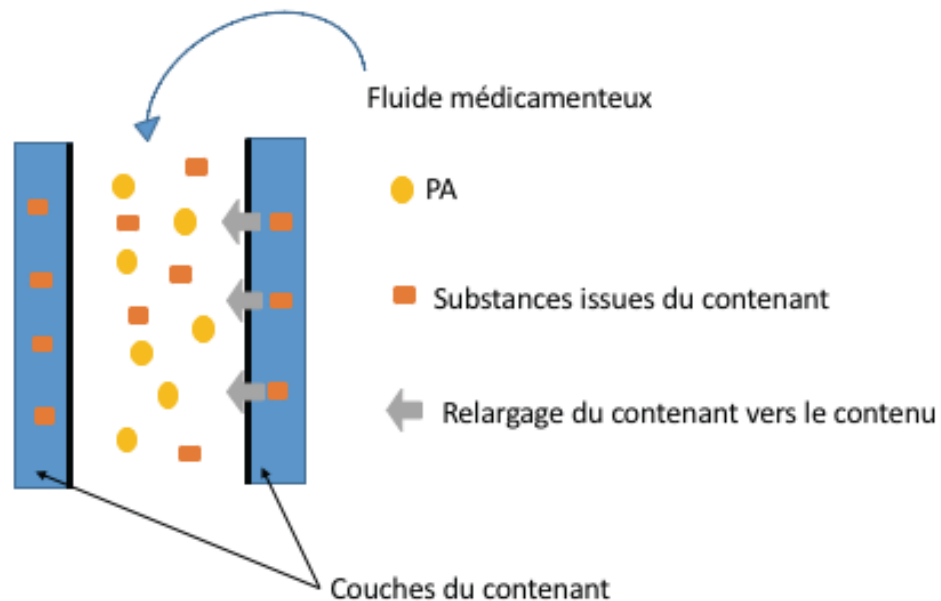


Figure 22 : Représentation schématique du phénomène de désorption.

Tous les plastifiants migrent hors du PVC mais leur comportement migratoire est différent. Par exemple, Bernard *et al.* (102) et Faessler *et al.* (140) ont comparé la migration du DEHP, DEHT, DINCH et TOTM. Les conditions de migration entre les 2 études n'étaient pas identiques. En effet, Bernard *et al.* (102) ont utilisé un mélange *in vitro* composé d'éthanol et d'eau (50/50) qui, selon le Règlement UE 10/2011 (141) reflète les aliments à caractère lipidique et représente la situation la plus critique, « *worst case* ». Alors que Faessler *et al.* (140) ont perfusé de la NP pendant 24 heures. Les deux études ont cependant permis de montrer que le DEHP migrait le plus, suivi du DINCH, du DEHT et enfin du TOTM. Eckert *et al.* (142) ont également montré que le TOTM issu des canules de CEC migrait 350 fois moins que le DEHP.

Cette différence de comportement dépend de plusieurs facteurs comme : les propriétés physico-chimiques des plastifiants, les propriétés des matériaux utilisés, les propriétés physico-chimiques de la solution médicamenteuse ou du sang, la dynamique des fluides, la température...

Considérons dans un premier temps, l'influence des propriétés physicochimiques des plastifiants (tableau 5). Les différents paramètres à prendre en compte sont : la polarité, la solubilité, le poids moléculaire, l'encombrement stérique, le nombre de ramifications et le coefficient de partage du plastifiant Log P. Plus ce dernier est élevé, plus le plastifiant aura tendance à migrer dans les solutions lipidiques.

Tableau 5 : Caractéristiques physico-chimiques des plastifiants.

	Solubilité (mg/L) dans l'eau	Poids moléculaire (g/mol)	Coefficient de partage du plastifiant
ATBC	20*	402,5	4,3
DEHP	0,003*	390,6	7,5
DEHA	0,78 (22°C)	370,6	> 6,11 – 8,0
DEHT	0,4 µg/L (eau de pluie)* 0,35-1,5 mg/L (eau de mer)*	390,6	5,72 (eau de pluie) 5,26 (eau de mer)
DINP	0,6 µg/L*	420,6	8,8
DINCH	<0,02 (25°C)	424,6	10
TOTM	0,13 (25°C)	546,8	5,94

* température non précisée

La polarité est un facteur essentiel à considérer pour expliquer ces phénomènes de migration. Théoriquement, plus les plastifiants sont polaires, plus le plastifiant est lié au PVC. Le DEHA, qui présente la plus faible polarité, due à l'absence de noyau aromatique et à la présence de deux chaînes latérales aliphatiques, est peu compatible avec le PVC. L'ATBC est également peu polaire mais plus que le DEHA en raison de la présence dans sa structure chimique de groupements carbonés additionnels.

Concernant l'encombrement stérique, le TOTM présente de loin la structure la plus encombrante. En effet, ce dérivé de l'acide phtalique est similaire au DEHP mais possède 3 chaînes alkyles latérales supplémentaires. Le DEHT est identique au DEHP mais la substitution a lieu en para et non en ortho comme le DEHP. La présence de ses 2 chaînes latérales rend sa migration difficile et il migre moins que le DINCH et le DEHP. Le DEHA présente un faible encombrement stérique compte tenu de sa structure alkyle linéaire, il est donc moins ramifié que le DEHP, tout comme l'ATBC. Le DINP et le DINCH, structurellement proches, sont également moins ramifiés que le DEHP, ils seraient donc plus sujets à la migration que le DEHP.

Toutefois, ces données physico-chimiques ne sont pas suffisantes pour expliquer la migration des plastifiants dans les conditions réelles de perfusion dans les services de soins. D'autres paramètres sont à prendre en compte tels que :

- Le débit de la perfusion : Bernard *et al.* (86) ont mesuré la quantité de plastifiants libérés dans le simulant de 6 prolongateurs fabriqués avec différents plastifiants : TOTM, DEHT, DINP et DINCH. Les auteurs ont montré que la quantité de plastifiants libérés dans le simulant augmente au cours de la perfusion. Toutefois, la quantité de plastifiant libéré dépend du débit de perfusion. En effet, plus le débit de perfusion est élevé, plus le volume perfusé est élevé et plus la quantité de plastifiant libéré sera élevée. Une approche physico-chimique a également été utilisée en mesurant les quantités des différents plastifiants libérés du DM rapportées à la surface du dispositif en contact avec le simulant et au volume perfusé. Dans cette approche, un débit de perfusion plus faible peut extraire plus de plastifiant. Néanmoins, la migration du plastifiant est similaire à tous les temps au cours de la perfusion sur 24 heures.
- Le temps et les conditions de stockage des DMs : la migration des plastifiants semble s'atténuer avec le temps (142) : en effet, moins de plastifiants (TOTM et DEHP) migrent lorsque les circuits de CEC sont conservés 30 semaines *versus* 2 semaines après leur fabrication. Ce qui laisse suggérer qu'un dégagement progressif de plastifiants (qui sont des substances volatiles) peut se produire à partir des tubulures fraîchement produites.
- Le diamètre interne des tubulures : Faessler *et al.* (140) ont également comparé la migration du DEHP et du DEHT à travers deux tubulures de diamètres internes différents. La migration était diminuée d'environ 30% avec les tubulures ayant le plus grand diamètre interne. Ce résultat peut s'expliquer par la surface de contact entre la solution médicamenteuse et le polymère qui est plus grande avec un volume constant de solution médicamenteuse lorsque le diamètre interne des tubulures augmente.

Il faut également souligner qu'il n'est pas rare que plusieurs facteurs agissent simultanément, conduisant à des situations à haut risque de migration des plastifiants.

Une situation clinique particulière, l'ECMO est représentative de ce cas de figure. Cette situation regroupe plusieurs facteurs responsables d'une forte migration de plastifiants. Tout d'abord, le sang qui traverse les canules est un agent d'extraction des plastifiants : ceux-ci, lipophiles, vont se solubiliser dans le sang. D'autre part, les canules sont chauffées à 37°C pour maintenir la température corporelle, ce qui est également un facteur favorisant la migration. Enfin, le débit sanguin peut être faible, notamment en pédiatrie et la durée de ces ECMO peut parfois durer jusqu'à 60 jours dans certaines conditions cliniques, ce qui en fait une procédure à très haut risque de migration des plastifiants. A présent, dans ce type de DMs le DEHP semble être remplacé par d'autres plastifiants alternatifs. En effet, très récemment, Fernandez-Canal *et al.* (143) ont montré que le TOTM était à présent très largement utilisé dans la fabrication de circuits d'ECMO et que ce plastifiant migrerait mais à des concentrations inférieures à la valeur limite d'exposition (*Derived no effect level*) qui est égale à 1,13 mg/kg/jour.

b. Perméation

Le second phénomène de migration du contenant vers le contenu est la perméation. La perméation correspond au passage de gaz (tels que l'oxygène, le dioxyde de carbone) présents dans l'air dans les couches du polymère, puis dans la solution médicamenteuse. Cela peut conduire à une instabilité du PA si celui-ci est sensible à ces gaz.

L'exemple le plus connu illustrant ce phénomène de perméation est la NP. En effet, plusieurs études se sont intéressées à la stabilité de la NP et en particulier des vitamines C et B1 dans les mélanges nutritionnels (144–146). Toutes ces études ont conclu que la NP devait être conservée dans des poches multicouches plutôt que dans des poches EVA car l'oxydation était réduite avec des multicouches.

En conclusion de cette partie sur les interactions contenu-contenant, nous avons vu que le PVC est un matériau très sujet aux interactions contenu-contenant. En effet, par la présence des atomes de chlore les PA peuvent être adsorbés et les plastifiants contenus dans la matrice du PVC peuvent migrer et être administrés aux patients. Cette double problématique peut remettre en question son utilisation dans les services de soins bien que la substitution par d'autres matériaux ne soit pas toujours simple. Pour continuer à utiliser ce polymère tout en réduisant ces interactions, une modification physico-chimique (appelée aussi fonctionnalisation) de la surface de celui-ci semble être une alternative très intéressante. Plusieurs types de modifications sont décrites dans la littérature comme nous le détaillons dans la partie suivante.

III. Fonctionnalisation des dispositifs médicaux

De nombreuses recherches sont effectuées pour modifier les propriétés de surface de certains DMs. Dans la littérature, plusieurs études se sont intéressées à différentes fonctionnalisations permettant de limiter les phénomènes de migration et de sorption. Une solution pour continuer à utiliser le PVC en limitant la migration des plastifiants et/ou la sorption des PA est de modifier son extrême surface par un procédé physico-chimique sans que ses propriétés intrinsèques ne soient altérées. Nous nous sommes intéressés aux différentes fonctionnalisations pouvant être utilisées pour limiter les interactions contenu-contenant avec le PVC.

1. Limiter la migration des plastifiants

Comme évoqué précédemment, le PVC serait trop rigide et son utilisation en clinique ne serait pas possible sans l'ajout de plastifiants. Toutefois, ces plastifiants posent des questions en terme de sécurité vis-à-vis des patients compte tenu de leur propension à la migration et leur toxicité. Ainsi, plusieurs approches sont décrites dans la littérature pour limiter la migration des plastifiants du PVC. Ces différentes fonctionnalisations ont principalement ciblé la migration du DEHP, très peu de publications étant consacrées aux plastifiants alternatifs.

Plusieurs procédés sont décrits : la réticulation (« crosslinking »), le greffage («grafting »), le revêtement (« coating ») et la modification de l'hydrophilie/lipophilie de la surface.

a. La réticulation

Le procédé de réticulation consiste à réticuler les chaînes de PVC à la surface pour former une barrière et ainsi empêcher la migration des plastifiants. Cette réticulation peut se faire par des traitements physiques (par exemple, par des traitements UV, des procédés plasma froid ...) ou par des traitements chimiques.

i. Radiations ultra-violettes

Zygoura *et al.* (147) ont montré que les radiations par irradiation gamma à 25 kGy augmentaient significativement la migration de l'ATBC et du DEHA. Les auteurs ont conclu que les radiations provoquaient une scission de la chaîne macromoléculaire du PVC, augmentant ainsi la migration des plastifiants. Contrairement à cette dernière étude qui montrait que les rayons gamma pouvaient augmenter la migration des plastifiants, d'autres études ont, au contraire, montré que les rayonnements UV pouvaient diminuer la migration des plastifiants. En effet, Ferri *et al.* (148) ont montré qu'avec des radiations de 25, 50 et 100 Gy, la migration du DEHP diminuait plus dans les poches de sang que dans les tubulures. Il est envisageable de penser que cette différence peut être due à une meilleure pénétration et diffusion des radiations dans les poches que dans les tubulures. De même, une autre étude a utilisé des radiations UV ($52,5 \mu\text{W}/\text{cm}^2$) qui ont permis de réduire la migration du DEHP d'environ 50% sans que les propriétés mécaniques du PVC (élasticité et résistance à la traction) ne soient modifiées (149). Toutefois, les durées d'exposition aux radiations sont longues, de l'ordre de 1 mois.

ii. Le plasma

Le plasma constitue le quatrième état de la matière qui a été découvert en 1928 par le physicien Irving Langmuir. Un plasma est un gaz ionisé et est constitué d'un mélange d'électrons, de particules ioniques chargées positivement ou négativement, d'atomes neutres et de molécules.

Cette ionisation est obtenue par la génération d'un champ électrique, magnétique ou par de la chaleur. On distingue deux types de plasmas : les plasmas thermiques et les plasmas froids. Les plasmas thermiques sont générés à la pression atmosphérique (entre 10^4 et 10^6 Pa). Du fait de la pression, les collisions entre les particules sont très nombreuses et l'ionisation est essentiellement due à un effet thermique. Les plasmas froids permettent les modifications de la surface des substrats à basse température et sans altération des propriétés en profondeur des substrats, c'est pourquoi nous nous intéresserons uniquement au plasma froid (150).

Définition du plasma froid

Les plasmas froids sont des plasmas faiblement ionisés dits en « hors équilibre » et sont générés à basse pression et à basse température. Les températures sont relativement froides et sont comprises dans des intervalles allant de la température ambiante à quelques centaines de degrés Celsius, alors que les électrons contenus dans le plasma ont des niveaux d'énergie correspondant à de très hautes températures allant de 1 à 10 eV. A la différence des plasmas thermiques, ces plasmas froids ne sont pas dans un état d'équilibre thermodynamique mais plutôt dans un état stationnaire où chaque élément possède sa propre température.

La génération des plasmas froids se fait par l'application d'une différence de potentiel par un champ électrique. Ce champ électrique est généré entre deux électrodes et permet d'ioniser le gaz injecté (figure 23). Le gaz ionisé se décompose alors sous la forme d'électrons, d'atomes, de molécules, de cations et d'anions. Les éléments se trouvent dans des niveaux d'énergie très élevés, les vitesses de déplacements sont également très rapides, l'excitation de ces éléments est donc maximale (151).

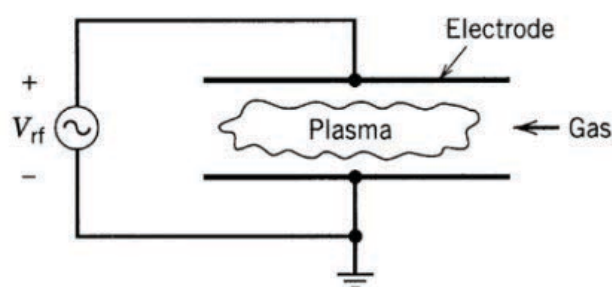


Figure 23 : Principe d'un plasma froid basse pression activé par un champ électrique d'après (151).

Ce mélange est composé d'espèces très réactives, dans leur état d'excitation. Elles vont entrer en collision avec la surface des échantillons placés dans la chambre plasma. Cette collision va modifier l'énergie de surface et modifier la surface d'une profondeur de quelques nanomètres (150). De nouvelles fonctions chimiques et radicaux vont être créés, les chaînes du polymère peuvent se rompre, la surface aura donc de nouvelles propriétés.

Comme déjà détaillé précédemment, le PVC est un polymère très utilisé dans le monde médical compte tenu de ses propriétés telles que sa flexibilité, sa durabilité, sa transparence, son coût et ses résistances mécaniques et chimiques... Toutefois, une modification de la surface du PVC permettrait de réduire les interactions contenu-contenant avec les fluides médicamenteux. Le plasma froid présente un fort avantage avec les polymères puisque seule la surface est modifiée, les propriétés en profondeur des polymères restent intactes (152,153). Le choix d'un matériau constitutif d'un DM est souvent déterminé par ses propriétés mécaniques qui correspondent à l'application et à la destination voulues du dispositif. Les traitements par le plasma froid peuvent altérer les propriétés de surface telles que la chimie de surface, l'énergie de surface et la rugosité, qui sont importantes pour la biocompatibilité des biomatériaux (154).

Le gaz contenu dans le plasma froid peut être généré par différentes méthodes : micro-ondes, radiofréquences, pulsé... Selon la nature de la pression appliquée, ces méthodes peuvent être classées en deux catégories : le plasma froid à pression atmosphérique et le plasma froid basse pression. Nous nous focaliserons par la suite sur le plasma froid basse pression. L'utilisation de la basse pression permet d'obtenir un plasma froid ayant une température proche de la température ambiante.

L'intérêt du plasma froid à basse pression est la faible quantité de gaz injectée, ce qui rend cette technologie écologique. Il s'agit d'un traitement permettant des modifications de surface à température ambiante, sans altération du substrat. Le plasma froid basse pression permet le traitement homogène à basse température de nombreux matériaux (polymères, métaux, textiles) et ceci pour diverses applications.

Plasma froid basse pression

Une enceinte de plasma froid basse pression est composée des éléments suivants (figure 24):

- 1 : la chambre de traitement dans laquelle les échantillons sont placés.
- 2 : les électrodes qui permettent de créer la décharge.
- 3 : le système de pompage qui permet de générer le vide pour chasser l'air éventuellement présent dans l'enceinte avant d'injecter le gaz.
- 4 : une ou plusieurs voies d'entrée de gaz, composées de débitmètres et d'électrovannes afin de mesurer et de réguler les débits des gaz injectés.
- 5 : le générateur radiofréquence. Le générateur est également connecté à une boîte d'accord (appelée également adaptateur d'impédance) permettant de minimiser les pertes de puissance.

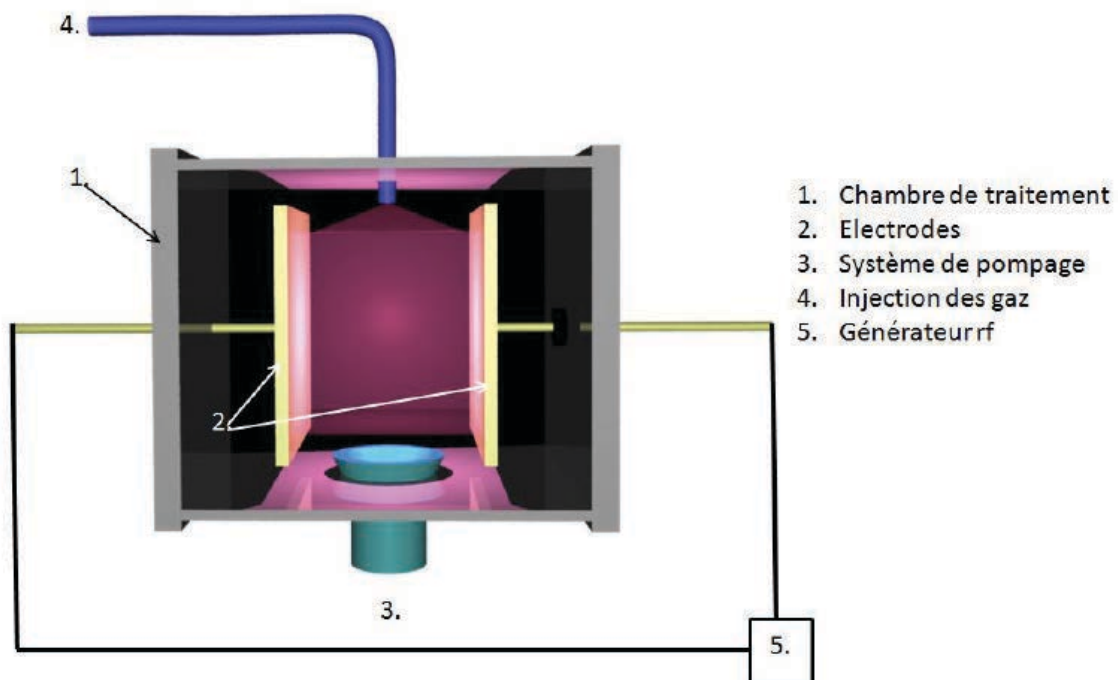


Figure 24 : Schéma d'une enceinte de plasma froid basse pression d'après (155).

Les substrats à traiter sont placés dans la chambre de traitement puis un gaz, à une pression comprise entre 0,01 et 1 mbar, y est injecté. Le générateur radiofréquence va apporter de l'énergie sous la forme d'un champ électrique, ce qui va permettre d'ioniser le gaz (155).

Le plasma froid basse pression est très utilisé dans le domaine médical (156–159) et cette technique semble très intéressante pour notre étude compte tenu des différents effets

engendrés sur la surface des substrats. Les effets du plasma froid basse pression sont détaillés dans les sections suivantes.

Effets du plasma froid sur une surface

Le plasma froid va donc permettre d'activer des espèces en surface qui vont ensuite induire des modifications physico-chimiques de la surface du polymère. Ainsi, plusieurs phénomènes peuvent se produire pendant ou après le traitement du plasma qui dépendent des espèces contenues dans le plasma (153,160) :

- La gravure ionique réactive (“etching”). Ce phénomène correspond à la rupture des liaisons chimiques, ce qui rend le substrat chimiquement actif et prêt à créer des liens avec les radicaux. Ce phénomène est principalement utilisé pour préparer les échantillons de polymères avant la microscopie électronique. En effet, le traitement peut exposer une surface propre et rendre l'échantillon plus mince, ce qui permet d'augmenter le contraste et la résolution (152).
- Le greffage (“grafting”), c'est-à-dire que de nouveaux polymères ou molécules peuvent être greffés à la surface activée avec le plasma.
- La réticulation (“cross-linking”). De nouvelles liaisons intra et/ou intermoléculaires sont créées.
- Le nettoyage (“cleaning”).
- La polymérisation.
- D'autres réactions chimiques comme la substitution nucléophile (161)...

Les avantages de l'utilisation de la technologie plasma sont nombreux. Cette technique n'exige pas l'utilisation de solvants ni de produits chimiques, nuisibles à l'environnement, mais repose sur l'injection de gaz (comme l'argon, l'oxygène...). Les paramètres à vérifier pendant l'analyse sont essentiellement : la pression, le temps d'exposition, la puissance ou le débit du gaz. Le plasma peut être utilisé pour faire un dépôt chimique en phase vapeur (*chemical vapor deposition* - CVD) (162). De plus, le plasma permet de tuer et/ou d'inactiver les micro-organismes (163), ce qui justifie son utilisation dans des processus de stérilisation (164). Par exemple, le stérilisateur Sterrad® utilise du peroxyde d'oxygène (H₂O₂) à basse température (165).

Les gaz qui peuvent être utilisés lors du traitement par plasma sont différents. Ils influent et sont strictement liés aux changements de la surface. En effet, la nature du gaz mais aussi les conditions du processus affectent le résultat. Plusieurs gaz peuvent être utilisés : l'azote (N_2), les oxydes d'azote, l'oxygène (O_2), l'argon (Ar), l'hélium (He), l'hydrogène (H_2), le dioxyde de carbone (CO_2) et l'air.

D'autres paramètres autres que le choix du gaz doivent également être ajustés tels que les flux de gaz, la puissance, la pression et le temps de traitement.

Le traitement par plasma froid présente un fort potentiel pour la fonctionnalisation des DMs. Il est très utilisé pour augmenter la biocompatibilité des polymères, leurs propriétés antibactériennes... (163). La fonctionnalisation de sondes endotrachéales en PVC uniquement par un traitement de plasma d'oxygène a, par exemple, permis de diminuer de 70% l'adhésion des bactéries sur ces DMs (156). De nombreuses études exploitent le traitement par plasma froid pour activer et modifier chimiquement la surface des DMs. C'est le cas de prothèses vasculaires en polyéthylène téréphtalate (PET) (157) activées au plasma d'un mélange argon/oxygène (Ar/ O_2 85%/15%) puis greffées par de l'acide polyacrylique afin de réduire l'adhésion des plaquettes et le risque de thromboses. Il est ensuite possible de fixer sur les fonctions « acide carboxylique » du PET des PA (héparine, gentamicine...) afin de diminuer le risque de thrombose et d'infections (158). Des implants en polytétrafluoroéthylène (PTFE, Téflon) ont également été traités avec du plasma froid Ar/ O_2 puis des oligopeptides ont été greffés pour augmenter la biocompatibilité de ces DMs (166).

Effets du plasma froid sur le polychlorure de vinyle

La surface du polymère exposée au traitement plasma peut subir des ruptures des chaînes ou une réticulation, c'est-à-dire la formation de liaisons inter et intra-chaînes. Ces deux phénomènes sont en concurrence et dépendent, comme déjà mentionné ci-dessus, des conditions de traitement plasma. Dans des conditions dites « sévères » de traitement (durée de 2 min, puissance de 350 W et pression de 0,2 mbar), celui-ci peut conduire à une rupture des chaînes appelée « etching » qui peut être responsable de la dégradation de la surface du polymère. Cette rupture de chaînes peut être aussi bien chimique que physique : dans le premier cas, elle est favorisée par des radicaux (O_2 , CF_4), tandis que dans le second cas, elle l'est par le bombardement ionique, comme avec l'Ar (167).

Le plasma composé d'Ar permet d'arracher le chlore contenu dans le PVC. Le ratio du nombre d'atomes O/C augmente tandis que celui de Cl/C diminue. Ainsi, le plasma va entraîner une rupture des liaisons C-Cl et C-H. Il semble que l'oxygène provienne des réactions radicalaires post-plasma entre le carbone et l'oxygène de l'air. La présence de ces liaisons C-O ou C=O en surface du PVC après traitement par plasma Ar permet d'augmenter l'hydrophilie du polymère (figure 25) (160).

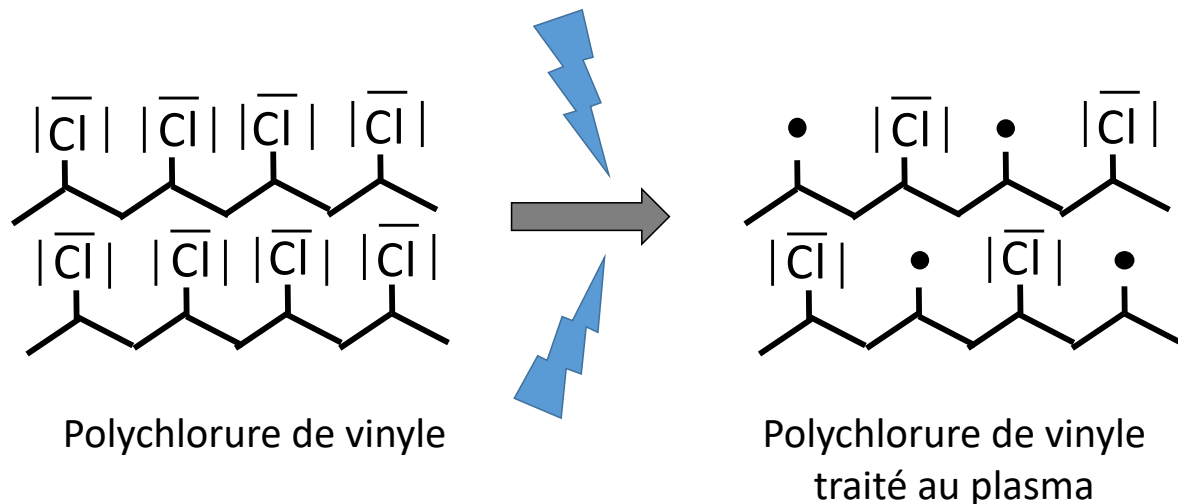


Figure 25 : Changements de la surface du PVC après un traitement au plasma. ● radicaux

Le processus de rupture des liaisons est caractérisé par différentes variables dont l'intensité et la durée du traitement qui jouent un rôle crucial dans le résultat final. En effet, un traitement de courte durée va permettre principalement une rupture des chaînes qui sont le plus à l'extérieur de la surface du polymère, influençant ainsi les caractéristiques superficielles, tandis que pour des temps de traitement plus longs, les chaînes les plus intérieures sont touchées par le traitement plasma (168).

De plus, les changements ne sont pas seulement obtenus par le traitement plasma, mais aussi par toutes les post-réactions qui peuvent avoir lieu. La surface activée après le processus peut encore se réarranger ; ce phénomène est défini comme le « vieillissement ». La surface activée pourrait subir une oxydation, une adsorption ou des réarrangements internes pour atteindre un état énergétique favorable (169).

Le PVC, après traitement avec le plasma à base d'Ar, présente des sites actifs et des radicaux, qui sont très instables. Pour cette raison, ils tendent à former de nouvelles liaisons, telles que les liaisons intramoléculaires ou des doubles liaisons (figure 26). La création de ces nouvelles liaisons est appelée réticulation (170).

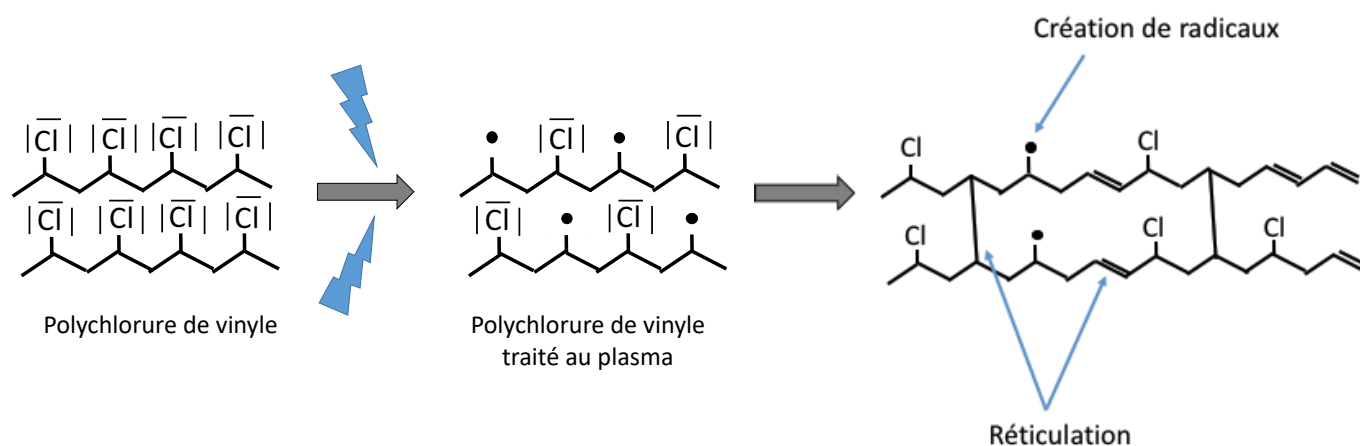


Figure 26 : Exemple de réarrangements post-traitement au plasma d'argon. ● radicaux

Réduction du relargage des plastifiants par le plasma froid

Une des solutions au problème de la migration des plastifiants est l'utilisation du plasma froid avec de l'argon. En effet, l'un des effets superficiels qui est obtenu par traitement à l'argon est la réticulation, c'est-à-dire la formation d'un réseau tridimensionnel qui permettrait de créer une barrière physique pour empêcher cette migration de molécules qui ne sont pas liées de façon covalente aux chaînes de PVC (171) grâce à la réticulation des chaînes en surface (172).

Hankett *et al.* (170) ont étudié le comportement d'un plastifiant, le DEHP, présent à quatre concentrations (5-10-25-65% m/m) dans différentes conditions par spectroscopie par génération de fréquence somme visible-infrarouge (*Sum-frequency generation* – SFG). Cette technique permet d'analyser la surface du PVC. Les auteurs ont utilisé du plasma d'air et un post-traitement thermique. En augmentant le pourcentage de DEHP présent dans le polymère (PVC), le spectre SFG présente moins de pics typiques du PVC mais de nombreux pics attribuables au plastifiant. Cela montre que lorsque la concentration en plastifiant est élevée, celui-ci recouvre la surface du polymère. Le traitement avec le plasma ne modifie pas la position du DEHP, mais il pourrait entraîner une réorganisation dans leur disposition. Au

contraire, le post-traitement thermique conduit à une migration du plastifiant à la surface, si sa concentration est d'environ 5 ou 25% m/m. Pour des concentrations de plastifiant plus élevées (65% m/m), au contraire, il n'y a pas de modifications avant et après le post-traitement thermique. Le traitement par plasma réalisé après le post-traitement thermique provoque une réapparition du signal donné par le PVC. Cela montre qu'en présence de concentrations de DEHP comprises entre 5% et 10% m/m, le traitement au plasma après le post-traitement thermique conduit à une plus faible concentration de plastifiant à la surface, ce qui pourrait réduire la migration.

Zhang *et al.* (173) ont comparé la migration de deux plastifiants : le di(butyl) phthalate (DBP) et le di(ethyl) phthalate (DEP). Le DEP migre plus que le DBP. En effet, sa structure moléculaire, moins encombrante que celle du DBP, doit favoriser sa migration, puisque le DBP possède des chaînes plus longues que le DEP. Toutefois, plus le DBP est en concentration élevée dans la matrice du PVC, moins il est stable et plus il a tendance à migrer. La migration est également influencée par la chaleur, plus les échantillons sont chauffés, plus le DBP a tendance à migrer. Contrairement au DEP, la migration du DBP est réduite par un traitement avec du plasma d'O₂.

Audic *et al.* (171) ont utilisé du plasma froid pour limiter la migration du DEHA contenu dans des films alimentaires. Les effets de différents gaz ont été comparés : N₂, CO₂, He, H₂ et Ar avec des durées de traitement de 0,5 ; 2 et 5 minutes. Les gaz inertes (He, H₂ et Ar) sont ceux qui permettent de limiter le plus la migration du DEHA, car ils sont connus pour leurs propriétés de réticulation et parmi ces gaz, l'Ar est le plus efficace pour réduire la migration. Le N₂ est responsable de liaisons entre des groupes fonctionnels et le CO₂ conduit préférentiellement à la rupture des chaînes ou à la fonctionnalisation. La réticulation semble donc intéressante pour créer une barrière physique permettant de limiter la migration des plastifiants.

Au travers de ces différentes études, nous pouvons constater que la fonctionnalisation du PVC par le plasma Ar semble être une solution à la migration des plastifiants contenus dans ce polymère.

Ainsi, la fonctionnalisation de la surface du PVC par plasma Ar pourrait i) entraîner une déchloration et une augmentation de la mouillabilité et donc de l'hydrophilie, permettant

ainsi une diminution de la sorption des PA et ii) entraîner une réticulation limitant le relargage des plastifiants (figure 27).

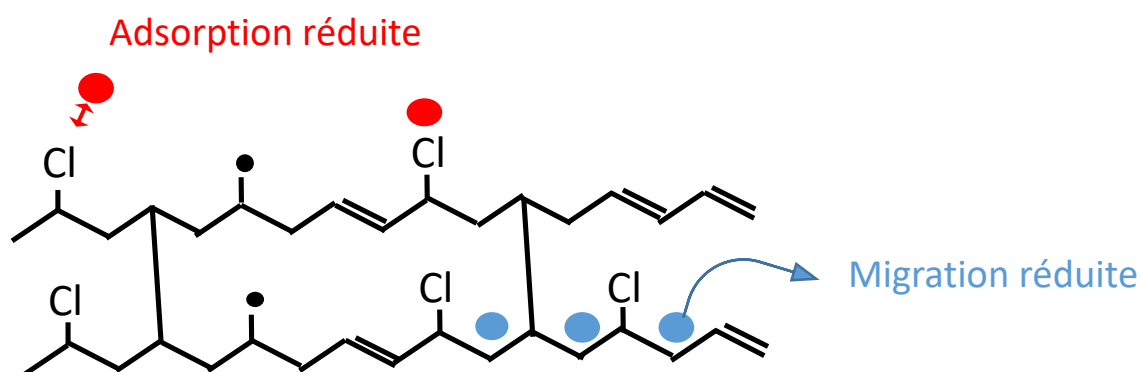


Figure 27 : Effets du plasma froid pour limiter les interactions contenu-contenant : l'adsorption des principes actifs et la migration des plastifiants. ● radicaux

Des traitements chimiques peuvent également réticuler la surface du PVC pour limiter la migration des plastifiants. Par exemple, la substitution nucléophile des groupements chlore sur le PVC par des anions thiosulfate entraîne également une réticulation de la surface du polymère. Dans ce cas, la migration du DEHP était très fortement réduite, mais la surface modifiée était malheureusement cytotoxique et favorisait l'hémolyse (174).

b. Le greffage

Le greffage consiste à fixer des molécules fonctionnelles sur la surface du PVC. Une autre idée est donc de greffer des molécules dans la matrice du PVC pour limiter la migration des plastifiants.

Ainsi, Raeisi *et al.* (175) sont parvenus à greffer des molécules de DEHP sur des nanoparticules d'oxyde de fer magnétique (Fe_3O_4) complexées avec des cyclodextrines (MNP-CDP). La migration était alors réduite de 50% à 65% selon le pourcentage de nanoparticules. Cette réduction est due à la formation de nouvelles interactions dipolaires-dipolaires entre le polymère et les nanoparticules et de fortes liaisons hydrogènes avec le DEHP. Une étude de la cytotoxicité avait également été menée qui n'a montré aucune toxicité des complexes

formés. De plus, les propriétés thermiques et mécaniques du PVC étaient conservées (figure 28).

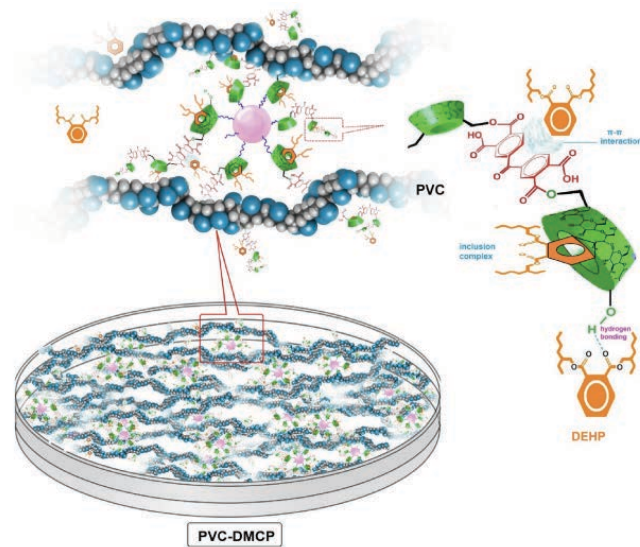


Figure 28 : Illustration schématique du PVC plastifié contenant les nanoparticules de MNP-CDP, d'après Raeisi *et al.* (175).

Dans une autre étude, du polyéthylène glycol (PEG-4000) greffé à la surface du PVC a permis d'une part de diminuer la migration des plastifiants et, d'autre part, d'augmenter la biocompatibilité du PVC sans que les propriétés mécaniques du PVC ne soient modifiées (176). Les auteurs ont conclu que le greffage de PEG-4000 permettait d'augmenter l'hydrophilie de la surface du PVC créant ainsi une barrière à la diffusion du DEHP.

c. Le revêtement

Le revêtement consiste à déposer sur l'échantillon une fine couche d'un autre matériau, organique ou inorganique. Ce revêtement peut, par exemple, s'effectuer par CVD. Mais cette technique nécessite des températures élevées, incompatibles avec les matériaux thermosensibles comme le PVC. D'autres techniques de dépôt existent comme l'enduction par trempage (ou « *dip-coating* ») qui consiste à tremper l'échantillon dans la solution de précurseur ou encore l'enduction centrifuge (ou « *spin-coating* ») dans lequel le dépôt de l'échantillon se fait par la rotation du substrat.

Plusieurs types de fonctionnalisations sont décrits dans la littérature pour modifier les propriétés de surface des DMs par l'utilisation d'un revêtement de surface. Citons par exemple, la silanisation de surface qui consiste à modifier une surface inorganique par des molécules organiques comme des organosilanes par la création de liaisons fortes entre le substrat et la molécule. Cette fonctionnalisation est très répandue dans le monde médical, en particulier pour les métaux, comme par exemple le titane (177), les céramiques (178) ou le verre (179).

Des bisphosphonates peuvent également être adsorbés à la surface d'implants en phosphates de calcium pour une action directe en inhibant la résorption osseuse ou bien comme molécules intermédiaires (180).

Une autre molécule, la polydopamine (PDA) est utilisée comme revêtement dans le domaine médical (stents vasculaires (181)...) et présente des caractéristiques très intéressantes.

La PDA est issue de la polymérisation en présence d'oxygène de la dopamine, un neurotransmetteur biologique présent dans tous les organismes vivants (figure 29).

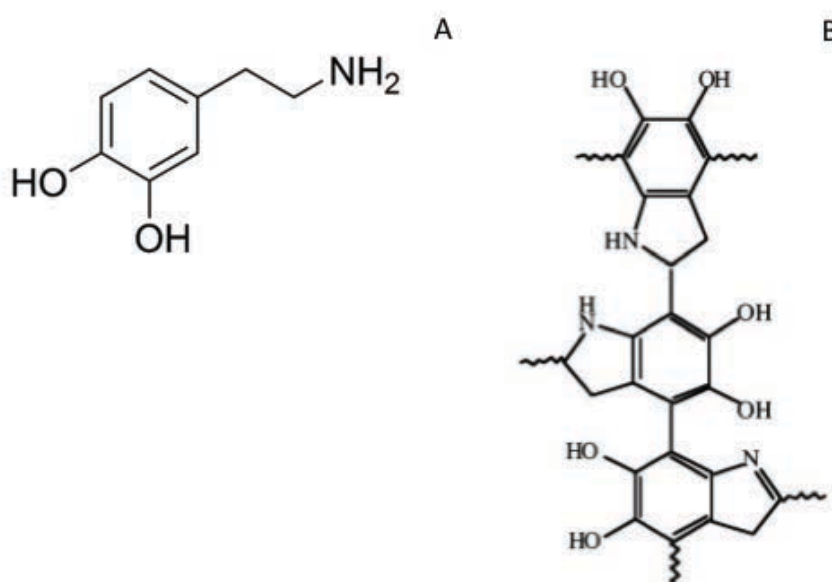


Figure 29 : Structure chimique de la dopamine (A) et de la polydopamine (B).

×

La PDA est présente en particulier dans les protéines adhésives des moules marines (*Mitylus edulis*). De nombreuses équipes se sont intéressées à cette molécule car elle présente l'avantage d'être très adhésive sur des substrats aussi bien organiques qu'inorganiques (182–185) : différents métaux, des oxydes (TiO_2 , SiO_2 , Al_2O_3), des céramiques (verre et hydroxyapatite) et des polymères synthétiques (polystyrène, PE, polycarbonate, PET, PTFE et PUR).

Le mécanisme exact de la polymérisation de la dopamine n'est pas bien connu. Néanmoins, diverses études (182–184) se sont intéressées à une voie synthétique possible de la PDA (figure 30).

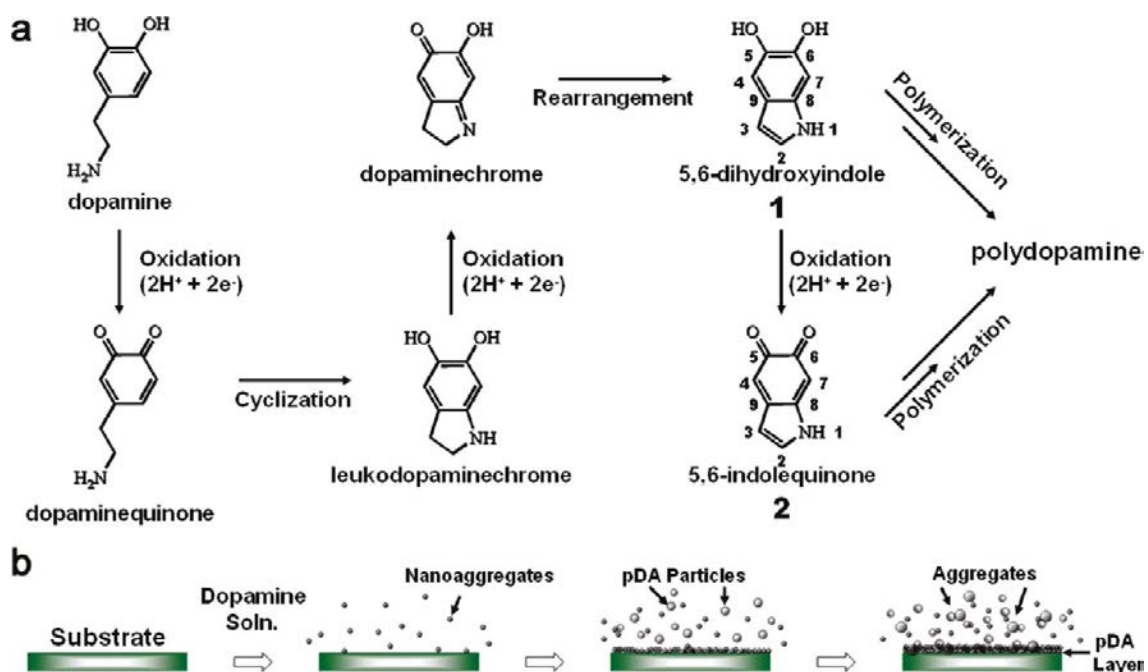


Figure 30 : Synthèse de polydopamine (a) et processus de revêtement du substrat (b) d'après Jiang *et al.* (184).

Comme le montre la figure 30, la dopamine s'oxyde en dopaminequinone, puis après des processus de cyclisation et de réarrangement, en 5,6-dihydroxyindole (1) et après un autre processus d'oxydation, en 5,6-indolequinone (2). Ces produits de réaction sont capables de produire des oligomères, qui s'agrègent pour donner des agrégats des nanoparticules (2-20 nm), qui se lient pour former des particules de PDA (20 – 500 nm) avec un poids moléculaire

élevé. Enfin, ces particules sphériques s'agrègent entre elles, conduisant à des agrégats de PDA (0,5 – 5 μm).

Les deux fonctions principales de la PDA décrites dans la littérature comme ayant un rôle majeur dans l'adhésion de la PDA sur le substrat sont les groupements « catéchol » et les fonctions « amine » (figure 31) (186).

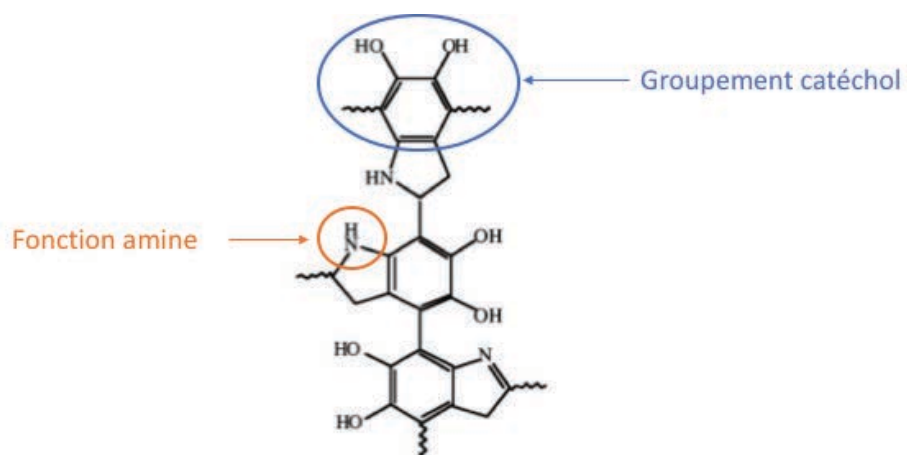


Figure 31 : Identification des groupements et des fonctions de la polydopamine permettant la liaison de la polydopamine au substrat.

Pour certains auteurs (187), la PDA n'est pas un polymère qui est lié de manière covalente mais plutôt un agrégat de monomères qui sont maintenus ensemble par des forces non covalentes comme : le transfert de charges (correspondant à un transfert d'électrons), les liaisons hydrogènes et les interactions π - π . Ce sont l'ensemble de ces interactions qui permettent le maintien de la PDA au substrat et qui confèrent au polymère une stabilité et une insolubilité élevées.

Afin d'obtenir une couche adhésive à la surface d'un substrat, une simple immersion de l'échantillon (par exemple par « dip coating ») dans une solution aqueuse de dopamine est suffisante, à un pH de 8,5 (pH de l'environnement marin) (figure 32). Il s'agit d'une méthode facile et rapide, ne nécessitant qu'une seule étape, contrairement à d'autres procédés de type couche par couche (« layer-by-layer »).

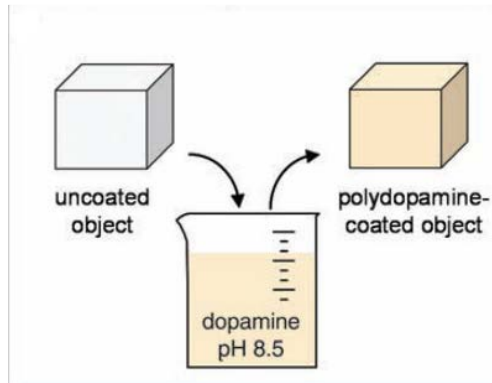


Figure 32 : Formation de la couche de PDA sur une surface par immersion d'après Lee *et al.* (182).

L'épaisseur de la couche de PDA déposée dépend autant du temps de réaction que de la température (figure 33). Lee *et al.* (182) ont mesuré par microscopie à force atomique des épaisseurs de couches de PDA obtenues aux différents temps de contact avec la solution et ont montré que l'épaisseur de la couche de PDA atteignait environ 50 nm après 24 heures d'incubation. Cependant, après 16 heures d'incubation, l'épaisseur de la couche est déjà maximale. Dans cette étude, la température de la réaction n'était pas précisée.

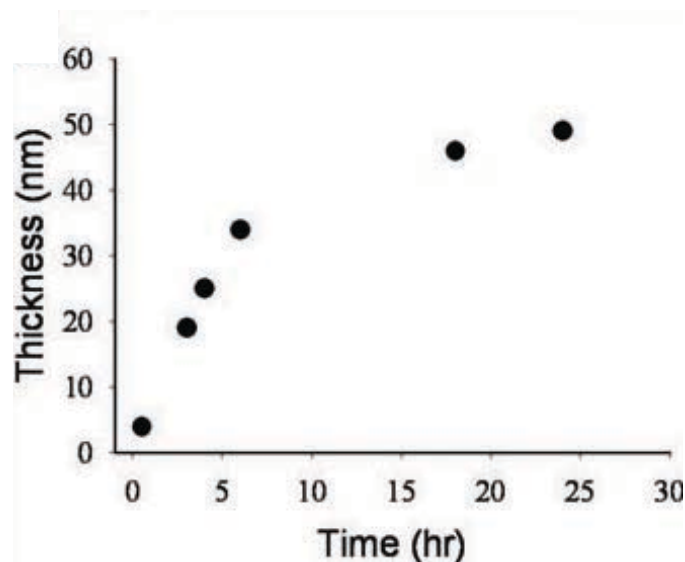


Figure 33 : Épaisseur de la couche de polydopamine en fonction du temps d'incubation de la dopamine avec le tampon Tris d'après Lee *et al.* (182).

Par ailleurs, une température de réaction élevée entraîne une vitesse de réaction plus élevée, ce qui conduit à la formation d'une couche plus épaisse de PDA, mais de fait plus rugueuse

que les couches formées à basse température. Des surfaces plus hydrophiles ont également été obtenues en élevant la température de réaction de 20 à 45 °C (184).

Le dépôt et l'épaisseur de la couche de PDA sur un substrat dépendent également d'autres facteurs tels que la présence d'oxygène dans l'atmosphère de la réaction, la nature du tampon et de l'oxydant utilisés et du pH (183). Le substrat lui-même, selon ses paramètres de surface (rugosité, énergie de surface...) influe sur le dépôt de la PDA dans des conditions de réaction identiques (184).

Le dépôt de PDA peut être utilisé tel quel, mais il est souvent utilisé comme primaire d'accroche pour fixer de façon covalente d'autres molécules fonctionnelles, comme par exemple des biomolécules. En effet, les groupes catéchols et quinones, présents dans la structure de la PDA, sont capables d'interagir avec le nucléophile des biomolécules. Lee *et al.* (188) ont par exemple fixé des molécules de trypsine sur la PDA. Sobocinski *et al.* (181) ont greffé sur un stent en cobalt chrome de la PDA qui a permis l'accroche de cyclodextrines. Ces cyclodextrines libéraient de manière prolongée du paclitaxel, un médicament antinéoplasique.

De même, des molécules d'héparine ont été greffées sur des membranes microporeuses de poly (fluorure de vinylidène) (PVDF) revêtues de PDA pour améliorer l'hémocompatibilité et l'hydrophilie de la surface de ces membranes (189). En effet, le PVDF est inerte et ne possède pas de groupes réactifs pour se coupler directement avec des espèces fonctionnelles, la PDA sert donc de lien entre les molécules d'héparine et la surface du substrat.

En conclusion, le dépôt de PDA à la surface d'un substrat apporte de nombreux avantages, car il permet de modifier les propriétés de la surface d'un substrat, il est très adhésif à toutes sortes de substrats et permet le greffage covalent de molécules fonctionnelles qu'il n'aurait pas été possible de fixer directement et durablement sur le substrat. Dans le cadre de cette thèse, la PDA sera utilisée afin de créer un revêtement très adhérent au PVC, permettant de former une barrière limitant la sorption des PA et la migration des plastifiants.

Plusieurs types de revêtements sont décrits dans la littérature pour réduire la migration des plastifiants.

Selon Karle *et al.* (190) le revêtement de canules d'ECMO par de l'héparine, initialement utilisée pour augmenter l'hémocompatibilité et réduire le risque de thromboses, permet également de réduire la migration du DEHP. Toutefois, Hildenbrand *et al.* (191) ont contredit ces affirmations en montrant que le taux de DEHP ayant migré était similaire entre les canules revêtues d'héparine et les canules non revêtues.

Münch *et al.* (192) ont mis au point un revêtement de phospholipides sur du PVC plastifié au TOTM et au DEHP, afin de limiter la migration de ces plastifiants. Toutefois, ce revêtement n'a pas fonctionné car la migration a augmenté en présence de ces phospholipides.

De nombreuses études ont utilisé le procédé « solution-gélification » (sol-gel) qui apparaît comme une bonne alternative car elle permet de réaliser des couches minces inorganiques ou hybrides (organique-inorganique) à basse température.

Par exemple, Messori *et al.* (193) ont testé un revêtement sol-gel hybride sur PVC plastifié au DEHP (33% m/m), basé sur un mélange composé d'oxyde de polyéthylène à terminaison triéthoxysilane (PEO-Si) et de silices. L'utilisation de ce revêtement a permis de réduire d'un facteur 10 la migration du DEHP comparé au PVC non revêtu.

Massard *et al.* (75) et Bernard *et al.* (194) ont également mis au point des sol-gel hybrides basés sur des mélanges de méthacryloxypropyl-triméthoxysilane (MAPTMS), d'isopropoxyde de titane et d'acide acrylique (AA). Un photoinitiateur (2,2-diméthoxy-1,2-diphényléthane-1-one) a permis la photopolymérisation UV de ces revêtements sol-gel.

Ces revêtements ont permis la réduction de la migration du DEHP d'environ 92%. Dans ces travaux, la pré-activation du PVC par des traitements de type plasma froid n'a pas permis d'augmenter l'effet protecteur de la solution hybride sur la migration des plastifiants. Cependant, cette barrière sol-gel n'est pas stable dans le temps puisqu'après 24 heures, le DEHP migre plus qu'au début de l'étude.

Ainsi, différents traitements sont décrits dans la littérature comme pouvant réduire la migration des plastifiants. Toutefois, nous nous intéressons également dans cette thèse à la sorption des PA dont différentes études pour la limiter sont décrites dans le paragraphe suivant.

2. Limiter la sorption des principes actifs

De nombreuses études, et plus particulièrement celle de Hewson *et al.* (128), ont montré qu'un faible débit de perfusion augmente la sorption des PA. En effet, le temps de contact entre le polymère et le PA est plus élevé. *A contrario*, l'utilisation d'un débit plus rapide de perfusion permet de limiter la sorption de certains PA. Toutefois, cette pratique n'est pas satisfaisante puisque le PA est tout de même adsorbé à la surface du polymère et l'augmentation du débit de perfusion ne peut pas toujours être envisagée, comme par exemple dans des services de pédiatrie.

D'autres pratiques consistent à purger la tubulure de PVC avec une concentration plus élevée en PA de manière à saturer les sites de fixation qui sont présents à la surface du polymère et ainsi réduire la sorption. Mais cela n'est pas toujours possible. Il est à noter que les PA sujets à ces sorptions doivent être connus de tous afin de limiter leur impact en prenant un maximum de précautions.

Très peu de publications traitent de la réduction de la sorption des PA par le PVC. Bernard *et al.* (194) ont réalisé des études de réduction de la sorption du DZP et du DNIS avec des solutions sol-gel hybrides. Après 48 heures, la sorption de DZP est d'environ 60% pour le PVC revêtu contre 80% avec le PVC non traité (PVC-NT). La sorption du DNIS est d'environ 15% avec le PVC revêtu contre 45% avec le PVC-NT. Ces différences de sorption obtenues entre les PA semblent provenir des valeurs de Log P (Log P DZP = 2,7 et DNIS = 1,31) et d'une augmentation de la forme non ionisée du DZP dans la solution de SSI (pKa= 3,3 ; pH = 5,6) qui est plus affine pour le PVC. Toutefois, le revêtement ne semble cependant pas stable, en effet, des images réalisées par microscopie électronique à balayage (MEB) ont montré une dégradation des revêtements probablement causée par l'éthanol contenu dans la formulation du DZP. La sorption des médicaments sur ce PVC revêtu reste également toujours supérieure à celle observée sur des matériaux tels que le PE basse densité.

A l'heure actuelle, pour limiter, voire éviter cette sorption, la meilleure alternative est donc toujours le recours à d'autres polymères comme le PE ou le co-extrudé.

IV. Conclusion et objectifs de la thèse

Les polymères et en particulier le PVC sont des matériaux constitutifs des DMs destinés à la perfusion et à la transfusion des solutions médicamenteuses et des composés sanguins aux patients. Ces actes sont courants à l'hôpital et à domicile et peuvent être réalisés durant plusieurs jours. Comme nous l'avons vu, il est très largement décrit dans la littérature que le PVC peut interagir avec les solutions médicamenteuses. Ces interactions peuvent être principalement de 2 types.

La première interaction concerne le PA ou un excipient du médicament qui peut être retenu à la surface du PVC (adsorption) et qui peut même se retrouver dans les couches du polymères (absorption). Ces deux phénomènes, regroupés sous le terme de sorption, peuvent conduire à une diminution de la dose de médicament administré au patient puisqu'une partie du médicament est retenue sur le polymère. Si ce phénomène de sorption concerne les excipients du médicament, alors la formulation galénique du médicament s'en trouve modifiée, ce qui peut avoir des répercussions sur la stabilité du PA et ceci d'autant plus qu'il s'agit d'excipients ayant un rôle de conservateurs.

La seconde interaction concerne la migration ou le relargage de certains composés constitutifs du polymère. Dans le cadre de notre étude qui sera plus particulièrement ciblée sur le PVC, il s'agit de la migration des plastifiants qui sont ajoutés au PVC pour lui conférer souplesse et élasticité en vue de ses applications médicales. Comme nous l'avons évoqué, certains de ces plastifiants sont classés comme CMR et ainsi ont leur utilisation réglementée tel est le cas du BBP et du DEHP. Toutefois, avec d'autres plastifiants, dits plastifiants alternatifs au DEHP, bien qu'utilisés dans les DMs depuis 2010, les études de migration et de toxicité chez l'homme commencent seulement à être réalisées. En effet, la voie d'exposition principale de ces plastifiants à l'hôpital est la voie intraveineuse, toutefois celle-ci n'a pas été beaucoup étudiée dans la littérature.

Compte tenu de ces deux problématiques majeures, plusieurs solutions existent. En effet, il est possible de se tourner vers d'autres polymères comme le PE, le PUR... Toutefois, la

substitution par ces polymères n'est pas toujours facile et le PVC reste malgré tout encore utilisé. Afin de résoudre ces différentes interactions tout en conservant le PVC, il semble intéressant de modifier la surface du PVC, c'est-à-dire de la fonctionnaliser. Dans le monde médical, de nombreux DMs sont fonctionnalisés. Par exemple, les prothèses vasculaires peuvent être fonctionnalisées afin de limiter la thrombogénéicité et les infections. C'est dans cette optique que cette thèse a été mise en place avec pour objectif principal la mise en évidence de ces interactions physico-chimiques (sorption et migration) et la fonctionnalisation de la surface du PVC pour les limiter.

La partie expérimentale de cette thèse sera composée de 3 chapitres :

La première partie sera consacrée à décrire le phénomène de sorption du PVC au travers d'une étude sur l'insuline, médicament très largement prescrit et administré à l'hôpital. De nombreuses études se sont intéressées à la sorption de l'insuline humaine avec le PVC et le PE. Les résultats de ces études sont contradictoires. De plus, l'insuline humaine est de moins en moins utilisée à l'hôpital au profit des analogues de l'insuline, comme l'insuline asparte ; c'est pourquoi, nous avons choisi d'évaluer et d'analyser à la fois la sorption de l'insuline humaine et asparte et la perméation des conservateurs (inclus dans les spécialités d'insuline) avec les matériaux utilisés dans les DMs de perfusion (PVC, PE et coextrudé). Le diazépam est également une molécule très sujette à la sorption sera utilisé comme molécule traceuse dans la troisième partie.

La deuxième partie portera sur le dosage des plastifiants, pour cela une méthode d'extraction et une méthode de dosage de ceux-ci seront développées. Ces méthodes seront alors appliquées à la détermination de la composition en plastifiants de 10 DMs et permettront également l'étude de la migration des plastifiants qui sera développée dans la troisième partie. Nous avons choisi de développer une méthode de dosage chromatographique permettant d'étudier tous les plastifiants utilisés dans la fabrication des DMs avec un appareillage accessible en PUI.

Dans la troisième partie, différentes fonctionnalisations seront envisagées pour limiter ces interactions. Les caractérisations physico-chimiques de ces surfaces modifiées seront également effectuées sur des films en PVC fonctionnalisés. Pour cela, nous nous sommes orientés vers deux procédés : le traitement par du plasma froid basse pression d'argon qui va permettre de réticuler la surface du PVC et l'ajout d'un revêtement, la polydopamine qui va

permettre de créer une barrière physique pour limiter la sorption et la migration. Différentes combinaisons entre ces deux types de traitements physique et chimique seront testées dans le but de réduire ces interactions. Les premières expériences de traitement ont été réalisées sur des prolongateurs en PVC qui sont très utilisés à l'hôpital. Toutefois, des résultats préliminaires (non présentés dans ce mémoire) ont montré que le gaz du plasma froid diffusait mal dans ces prolongateurs au diamètre interne restreint. C'est pour cela que nous nous sommes ensuite orientés vers des disques de PVC pour lesquels le traitement par plasma ne pose pas de problème de diffusion. Les tests sont réalisés sur les deux plastifiants principalement retrouvés dans les DMs de perfusion, à savoir le DINCH et le TOTM.

Partie expérimentale

I. Sorption de l'insuline et de ses conservateurs avec le polychlorure de vinyle

Cette première partie illustre la problématique de la sorption des médicaments avec les matériaux constitutifs des DMs de perfusion comme les tubulures ou les prolongateurs. Pour cela, nous avons pris l'exemple de l'insuline qui est un médicament très utilisé et perfusé dans les services de soins. Dans la littérature, les études portant sur la sorption de l'insuline n'ont pas été réalisées sur tous les matériaux actuellement utilisés pour la perfusion de l'insuline, à savoir le PVC, le PE et le co-extrudé (PE/PVC). De plus, ces études ont été réalisées majoritairement sur une catégorie d'insuline, l'insuline humaine, alors que ce n'est plus l'insuline la plus utilisée aujourd'hui à l'hôpital. Nous nous sommes donc intéressés à deux types de spécialités d'insuline commercialisées : l'Umuline rapide® constituée d'insuline humaine et la Novorapid® composée d'insuline asparte.

Dans cette partie, l'objectif principal est d'étudier l'influence des matériaux de prolongateurs sur l'administration d'insuline asparte.

Les objectifs secondaires sont de i) comparer l'administration de l'insuline asparte à l'insuline humaine et ii) évaluer les interactions des conservateurs avec ces différents matériaux.

1. Matériels et méthodes

a. Produits

Les compositions des deux spécialités d'insuline commercialisées étudiées sont résumées dans le tableau 6.

Tableau 6 : Composition des insulines Umuline rapide® et Novorapid®.

Nom commercial	Laboratoire	Composants	Concentrations	Rôles
Umuline rapide® (données fournies par le laboratoire)	Lilly, Neuilly-sur-Seine, France	Insuline humaine	100 UI/mL (3,47 mg/mL)	Principe actif
		Glycérol		Agent tensioactif
		Métacrésol	2,5 mg/mL	Conservateur
		Eau pour préparations injectables		Solvant
		Acide chlorhydrique et hydroxyde de sodium		Ajustement du pH
Novorapid®(195)	Novo Nordisk, La Défense, France	Insuline aspartate	100 UI/mL (3,50 mg/mL)	Principe actif
		Glycérol		Agent tensioactif
		Phénol	1,50 mg/mL	Conservateur
		Métacrésol	1,72 mg/mL	Conservateur
		Chlorure de zinc		Maintien de la structure de l'insuline
		Phosphate disodique dihydraté		Additif
		Chlorure de sodium		Isotonisant
		Acide chlorhydrique et de l'hydroxyde de sodium		Ajustement du pH
		Eau pour préparations injectables		Solvant

Les fonctions conservatrices du phénol et du métacrésol dans la formulation de l'insuline sont essentielles (195), car ils permettent de conserver l'insuline qui est une protéine fragile, sous sa conformation la plus stable (hexamérique) (196). Bien que ce soient des conservateurs, leur présence dans la formulation pharmaceutique est donc primordiale pour que l'insuline puisse exercer son activité biologique. Ainsi, notre étude de sorption portera sur les insulines humaine et aspartate ainsi que sur les conservateurs (phénol et métacrésol).

Une étude de spécificité est réalisée pour identifier les composés de la Novorapid® et de l'Umuline rapide®. Du phénol cristallisé (Cooper®, Melun, France), du métacrésol (Sigma-Aldrich®, St-Louis, États-Unis) et l'étalon standard de l'insuline humaine de la Pharmacopée

Américaine (USP - *United States Pharmacopeia*) (Sigma-Aldrich®, St-Louis, États-Unis) sont utilisés.

b. Méthode analytique

La méthode de dosage est développée sur un système de chromatographie liquide ultra rapide (UFPLC : *Ultra Fast Pressure Liquid Chromatography*) (Shimadzu®, Marne la Vallée, France). Le système est équipé d'un dégazeur de phase mobile DGU-20A3R, de deux pompes à solvants LC-20ADXR (Prominence® 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 logiciel Labsolution® (Shimadzu®, Marne la Vallée, France).

i. Conditions chromatographiques

La méthode analytique est reprise et adaptée de Xu *et al.* (197). La phase mobile est composée d'une solution tampon de sulfate de sodium et d'acétonitrile (ACN) (produits chimiques VWR, Fontenay-sous-Bois, France) (71:29, v/v). Le sulfate de sodium anhydre (Na₂SO₄, VWR Chemicals, Fontenay-sous-Bois, France) est dilué dans de l'eau ultrapure (Système d'eau ultrapure, Purelab® Elga, Véolia, Wasquehal, France) afin d'obtenir une solution à 0,2 M (28 g/L) et ajustée à pH 2,3 avec de l'acide orthophosphorique à 85% (VWR Chemicals, Fontenay-sous-Bois, France). La température du four est fixée à +25 ° C. Le débit est fixé à 0,8 mL/min et le temps d'analyse est de 5 minutes. La séparation des composants est réalisée sur une colonne Gemini™ C18 (150 x 3 mm, 5 µm, Phenomenex®, Le Pecq, France) munie d'une pré-colonne C18 (4 x 2 mm Phenomenex®, Le Pecq, France). Le volume d'injection est de 20 µL et la détection en UV est effectuée à 214 nm.

ii. Méthode de validation

La méthode analytique est validée en suivant les recommandations proposées par Hubert *et al.* de la Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques (SFSTP) (198,199). La validation est effectuée selon la méthodologie du guide SFPC-Gerpac (93), c'est-à-dire sur trois jours consécutifs en déterminant les paramètres suivants :

- La spécificité qui correspond à la capacité d'une méthode à mesurer un analyte particulier dans un échantillon sans que cette mesure ne soit faussée par d'autres composés présents dans l'échantillon.
- La linéarité qui est la capacité d'obtenir des résultats directement proportionnels à la quantité en analyte présente dans l'échantillon dans un intervalle de dosage.
- L'exactitude qui exprime l'écart entre la valeur théorique considérée comme vraie et la valeur moyenne obtenue à partir de plusieurs essais. Elle traduit l'erreur systématique d'une méthode de dosage.
- La limite de détection (LD), qui correspond à la plus petite quantité d'analyte dans un échantillon pouvant être détectée mais non quantifiée.
- La limite de quantification (LQ), qui correspond à la plus petite quantité d'analyte dans un échantillon pouvant être quantifiée.

Les limites ont été calculées comme indiqué dans les équations 1 et 2 selon les préconisations du guide du Conseil International pour l'Harmonisation des Exigences Techniques pour les Produits Pharmaceutiques à Usage Humain (ICH) (200).

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

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

c. Étude de la perfusion en continu sur 24 heures

i. Préparation des échantillons d'insuline

Les insulines (Novorapid® et Umuline rapide® 100 UI/mL) sont diluées dans une solution de sérum salé isotonique (SSI) (Baxter, Guyancourt, France) pour atteindre 1 UI/mL dans des seringues en polypropylène Plastipak™ de 50 mL (Becton Dickinson, Le Pont de Claix, France) (figure 34). Les solutions sont perfusées avec des PSE (Frésenius Vial, Brézins, France) avec un débit de perfusion fixé à 2 mL/heure pendant 24 heures à température ambiante. L'extrémité distale des seringues est connectée à différents prolongateurs de perfusion. Aucune purge des

prolongateurs n'est réalisée pour ne pas saturer les sites de fixation présents sur les prolongateurs. Les dosages en UFLC-DAD sont réalisés à T0 dans la seringue puis à T30 minutes, T1h, T2h, T3h, T4h, T5h, T6h, T7h, T8h et T24h en sortie de prolongateur.

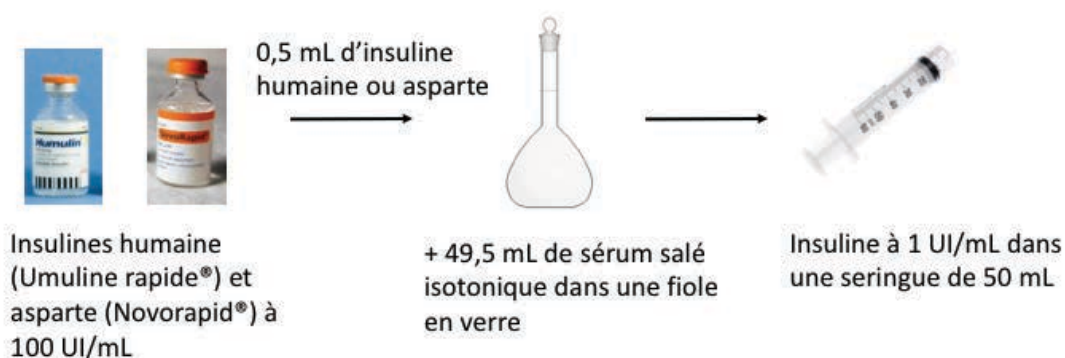


Figure 34 : Préparation des solutions d'insulines (Novorapid® et Umuline rapide®) dans les seringues de 50 mL.

ii. Matériaux des prolongateurs de perfusion

Le tableau 7 résume les caractéristiques (matériau, diamètre interne et longueur) des prolongateurs utilisés.

Tableau 7 : Caractéristiques des prolongateurs utilisés

Matériaux	Diamètre interne (mm)	Longueur (cm) [référence]			Surface interne de contact (cm ²)			Fournisseurs
		100	150	200	31,4	47,1	62,8	
PVC plastifié au DINCH	1,0	100 [PN3110]	200 [PN3120]		31,4	62,8		Cair LGL (Lissieu, France)
	1,5	100 [PN3210]	150 [PN3215]	200 [PN3220]	47,1	70,7	94,3	
	2,5	100 [PN3310]	150 [PN3315]	200 [PN3320]	78,5	117,8	157,1	
PE	1,0	100 [PE1155-10]	150 [PE1155-15]	200 [PE1155-20]	31,4	47,1	62,8	Vygon (Ecouen, France)
PE/PVC	1,0	100 [PB3110]	150 [PB3115]		31,4	47,1		Cair LGL (Lissieu, France)
	2,5	100 [PB3310]	150 [PB3315]	200 [PB3320]	78,5	117,8	157,1	

PVC : polychlorure de vinyle, PE : polyéthylène. DINCH : diisononylcyclohexane-1,2-dicarboxylate.

d. Expression des résultats

Chaque type de prolongateur est testé en triplicata avec chacun des deux médicaments : la Novorapid® et l'Umuline rapide®. Les solutions sont recueillies aux extrémités des prolongateurs et les composés sont dosés par la méthode décrite précédemment par UFLC-DAD.

Trois paramètres d'évaluation sont calculés :

- Le pourcentage moyen de produit mesuré en sortie de prolongateur au cours de la perfusion de 24 heures pour chaque matériau (PVC, PE et PE/PVC). Il est calculé selon l'équation 3. Afin de pouvoir comparer les résultats obtenus avec des prolongateurs ayant des longueurs et des diamètres internes différents, le pourcentage est rapporté à la surface interne de contact. Ainsi, une comparaison par matériau est réalisable.

Équation 3 :

$$\text{pourcentage recueilli} = \frac{\text{concentration du produit mesurée}}{\text{concentration du produit mesurée dans la seringue à T0}} \times 100$$

- La quantité cumulée d'insuline et de conservateurs recueillie au cours des huit premières heures de perfusion. Elle est comparée à la quantité théorique pour discuter de la quantité réellement administrée aux patients.
- La quantité recueillie pendant la 24^{ème} heure de perfusion est également mesurée. La période de recueil est comprise entre le temps 23 heures et le temps 24 heures de la perfusion.

Analyses statistiques

Un test de Shapiro-Wilk est effectué pour évaluer la normalité des résultats. A la suite de ce test, nous nous sommes orientés vers un test non-paramétrique.

Pour chaque composé, les quantités cumulées sur 8 heures et la quantité pendant la 24^{ème} heure de perfusion des trois matériaux est comparée par un test non paramétrique de Kruskal-Wallis suivant la méthode de Conover et Iman ($p < 0,05$) avec correction de Bonferroni pour détecter des différences significatives entre les différents prolongateurs de perfusion. Un test

non paramétrique de Mann-Whitney est utilisé pour comparer la sorption selon les différents matériaux 1) entre l'insuline aspartate et l'insuline humaine 2) entre le métacrésol contenu dans la Novorapid® et l'Umuline rapide®. Tous ces tests et graphiques sont réalisés avec les logiciels XL stat (Microsoft Excel, version 16.15) et GraphPad, Prism 6.

e. Analyse de la morphologie de la surface

Afin de voir si la sorption des composés altère et/ou modifie les matériaux des prolongateurs de perfusion, la morphologie de surface est étudiée par microscopie électronique à balayage (MEB). Les trois matériaux sont étudiés avant et après perfusion avec la Novorapid® (insuline aspartate) à 1 UI/mL pendant 24 heures. Deux grossissements sont utilisés : × 200 et × 500.

2. Résultats

a. Validation des gammes de dosage

La méthode analytique utilisée a permis une bonne séparation des composés (figure 35). L'étude de spécificité a ensuite permis d'identifier chaque pic obtenu.

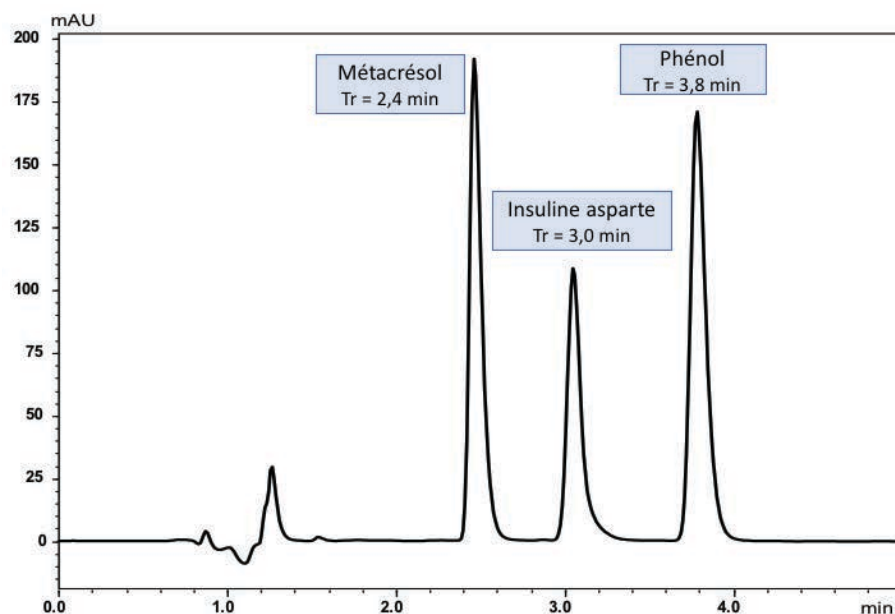


Figure 35 : Chromatogramme obtenu avec la méthode UFLC-DAD décrite pour l'insuline Novorapid®.
Tr = temps de rétention.

Une bonne linéarité et une bonne corrélation sont obtenues pour tous les composés, dans les concentrations étudiées (tableau 8). Les biais relatifs (BR) sont tous inférieurs à 5%. Les LD et LQ obtenues pour tous les composés sont compatibles avec les concentrations recherchées dans cette étude.

Tableau 8 : Paramètres de quantification de l'analyse UFLC-DAD.

Produits	Concentrations étudiées	r ²	LD	LQ
Insuline humaine	0,5-1,5 UI/mL	0,99990	0,023 UI/mL	0,046 UI/mL
Insuline asparte	0,5-1,5 UI/mL	0,99990	0,029 UI/mL	0,058 UI/mL
Phénol	7,5-22,5 µg/mL	0,99990	0,139 µg/mL	0,278 µg/mL
Métacrésol	8,6-25,8 µg/mL	0,99991	0,211 µg/mL	0,422 µg/mL

LD : limite de détection, LQ : limite de quantification

Nous avons tout d'abord évalué les pourcentages des différents composés recueillis en sortie de prolongateurs de perfusion afin de connaître la sorption sur les différents matériaux au cours de la perfusion.

b. Pourcentages d'insuline et de conservateurs recueillis pendant les 24 heures de perfusion

i. Umuline rapide®

L'insuline humaine est adsorbée environ 30 minutes après le début de la perfusion pour les prolongateurs en PVC ($24,3 \pm 12,9\%$) et en PE/PVC ($18,6 \pm 10,0\%$). En revanche, la perte est plus faible avec le PE ($3,1 \pm 1,6\%$). Cette adsorption ne dure pas au cours de la perfusion. En effet, après une heure de perfusion, le pourcentage d'insuline humaine recueillie est d'environ 100% pendant les 24 heures de perfusion, quel que soit le matériau de perfusion.

Après 30 minutes de perfusion, seulement $22,5 \pm 12,5\%$ de métacrésol sont perfusés avec des prolongateurs en PVC. Ce pourcentage augmente progressivement pour atteindre $64,0 \pm 18,3\%$ à la fin de la perfusion. Pour le PE et le PE/PVC, le pourcentage de métacrésol recueilli est d'environ 100% pendant toute la durée de la perfusion. On peut noter une faible perte de

métacrésol à la fin de la perfusion (T24h), car le pourcentage est de $95,6 \pm 1,8\%$ et de $96,6 \pm 1,2\%$ respectivement pour le PE et le PE/PVC (figure 36 et tableau 34 en annexe 3).

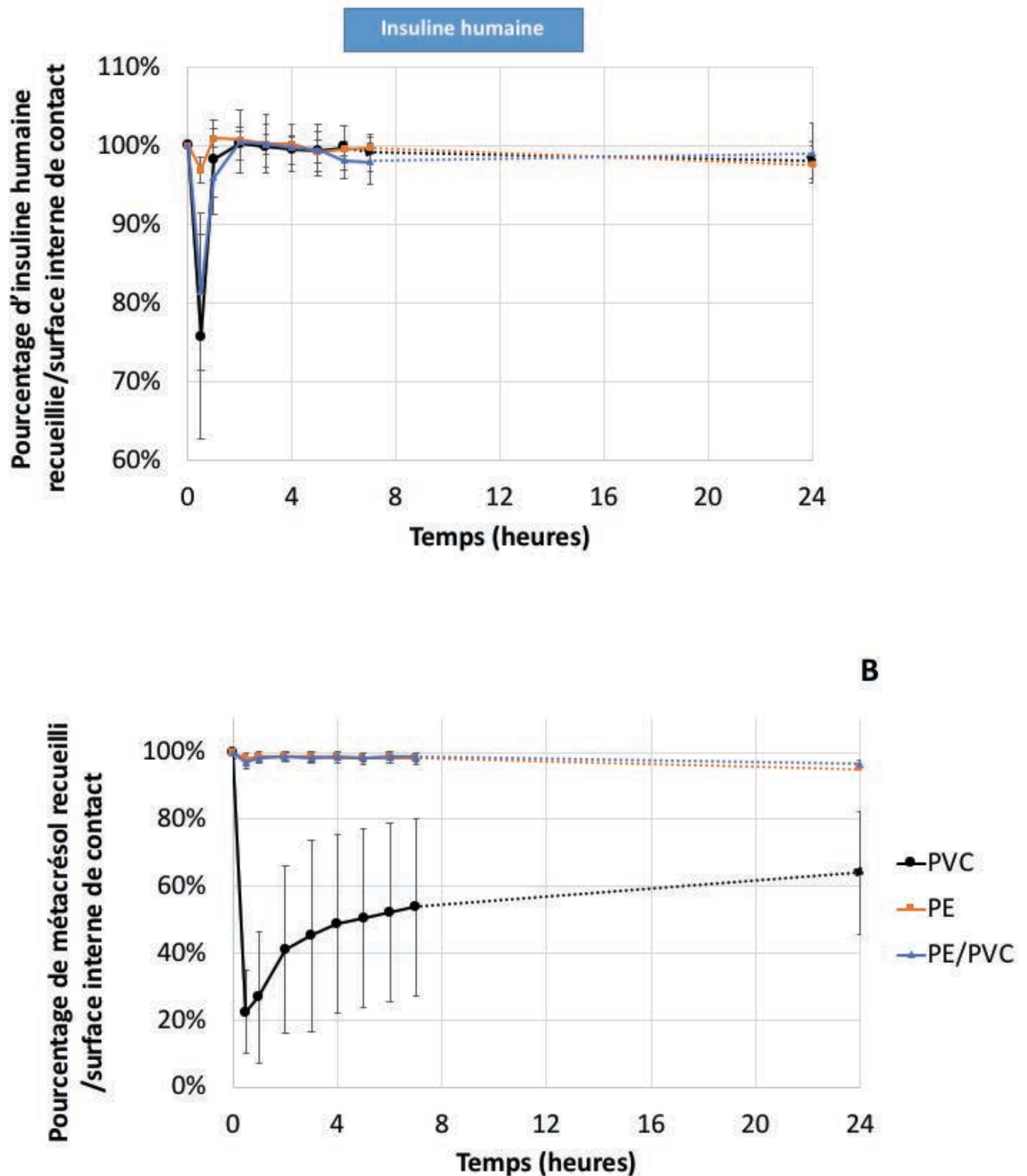


Figure 36 : Évolution des pourcentages des composés d'Umuline rapide® recueillis : insuline humaine (A) et métacrésol (B) lors d'une perfusion de 24 heures avec les prolongateurs en PVC, PE et PE/PVC.

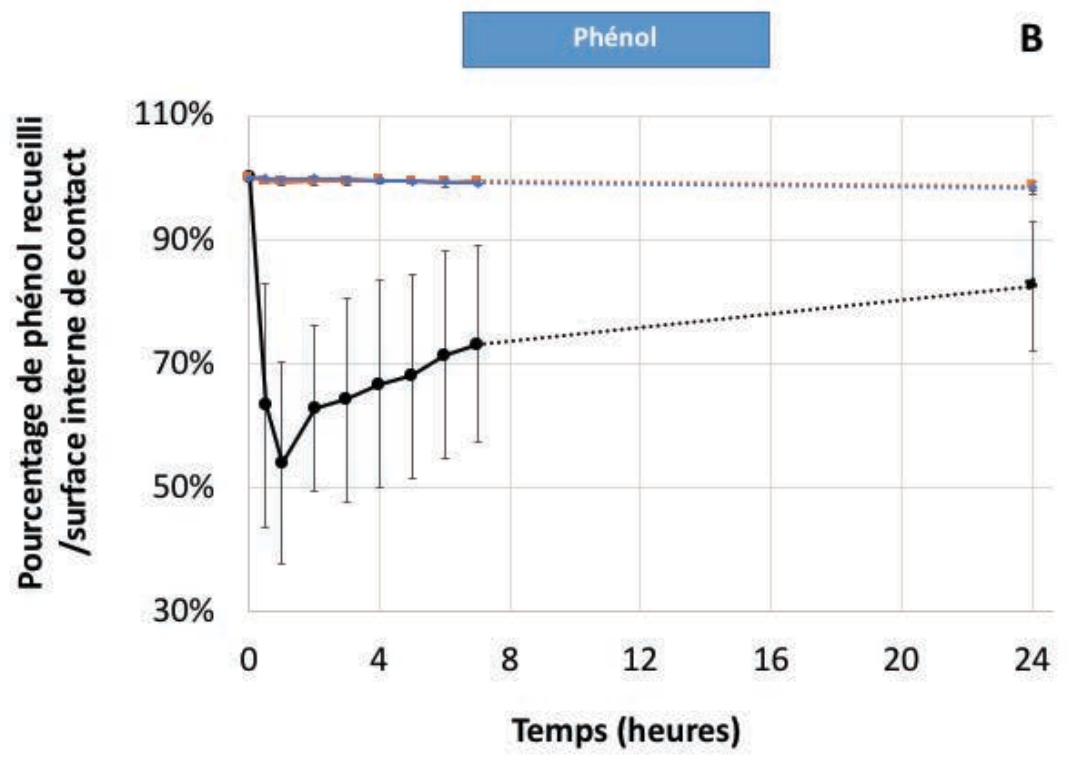
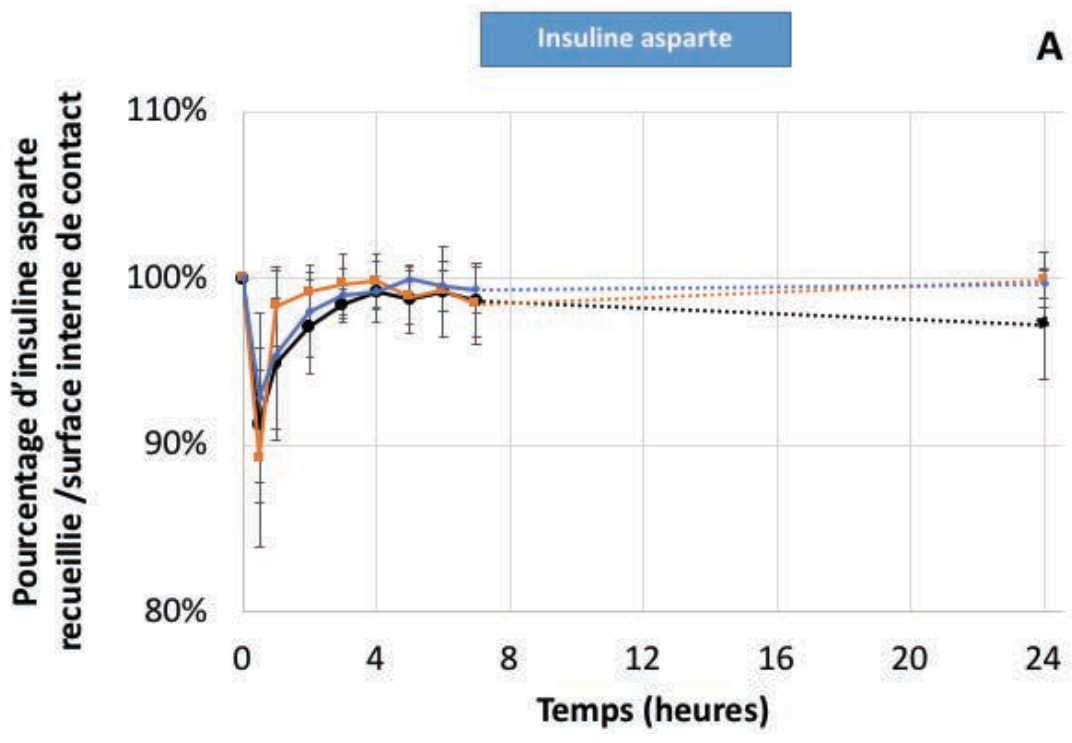
ii. Novorapid®

L'évolution des trois principaux composés de la Novorapid® (insuline asparte, phénol et métacrésol) au cours de la perfusion de 24 heures est résumée sur la figure 37 et le tableau 35 en annexe 3.

Le pourcentage d'insuline asparte recueillie est proche de 100% avec les trois matériaux des différents prolongateurs au cours d'une perfusion de 24 heures. Cependant, dans un premier temps, une faible perte d'insuline asparte est observée après trente minutes de perfusion. En effet, le pourcentage recueilli est équivalent à $91,2 \pm 4,6\%$, $89,2 \pm 5,3\%$ et $93,6 \pm 7,2\%$ pour le PVC, le PE et le PE/PVC respectivement.

En ce qui concerne le phénol, le pourcentage recueilli est supérieur à $98,6 \pm 0,8\%$ et $98,4 \pm 1,0\%$ pour le PE et le PE/PVC respectivement pendant les 24 heures de perfusion. Cependant, pour le PVC, le pourcentage recueilli est de $54,1 \pm 16,2\%$ après une heure. Puis, la perte de phénol diminue et le pourcentage final recueilli atteint $82,5 \pm 10,3\%$ après 24 heures.

Dans le cas du métacrésol, le pourcentage est supérieur à $96,6 \pm 0,5\%$ et $96,8 \pm 1,0\%$ avec les prolongateurs en PE et PE/PVC respectivement pendant les 24 heures de perfusion. Alors qu'avec les prolongateurs en PVC, le pourcentage de métacrésol recueilli est de $35,5 \pm 6,9\%$ après 1 heure de perfusion. Le pourcentage de métacrésol recueilli est d'environ 40% pendant les huit premières heures et atteint $62,9 \pm 15,8\%$ après 24 heures de perfusion, avec le PVC.



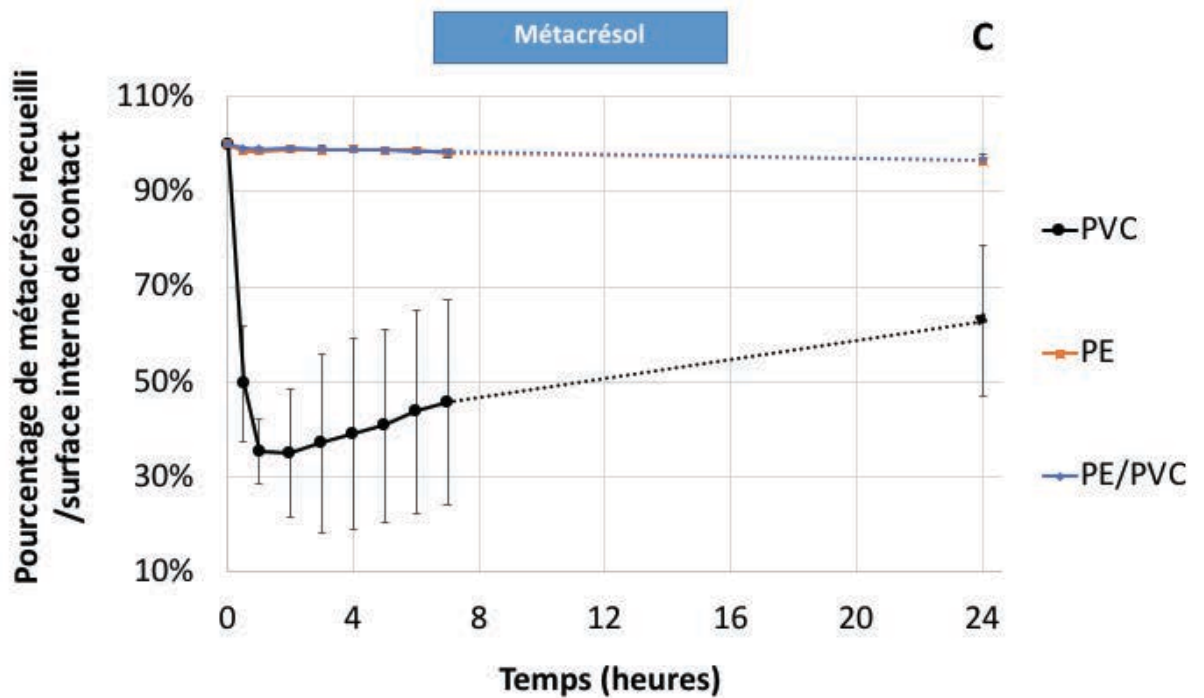


Figure 37 : Évolution des pourcentage des composés de Novorapid® recueillis : insuline asparte (A), phénol (B) et métracrésol (C) au cours d'une perfusion de 24 heures avec des prolongateurs en PVC, PE et PE/PVC.

c. Quantités cumulées sur les huit premières heures de perfusion

i. Umuline rapide®

Les quantités cumulées d'insuline humaine recueillies pendant huit heures de perfusion ne sont pas statistiquement différentes entre les trois matériaux en comparaison à la quantité théorique (16 UI) (figure 38).

La quantité cumulée théorique du métracrésol pendant huit heures de perfusion est de 400 µg et est statistiquement différente de la quantité obtenue avec le PVC. La quantité de métracrésol est significativement différente entre le PVC ($160,1 \pm 86,9 \mu\text{g}$), le PE ($392,2 \pm 6,0 \mu\text{g}$) et entre le PVC et le PE/PVC ($394,0 \pm 3,8 \mu\text{g}$) (p . Bonferroni = 0,0083).

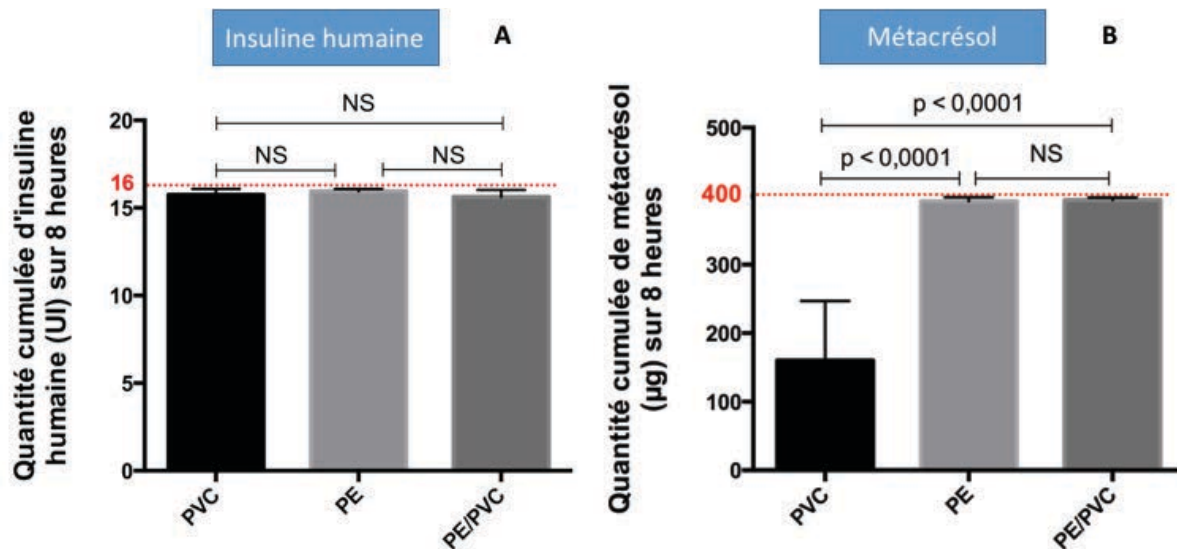


Figure 38 : Quantité cumulée pendant les huit premières heures de perfusion pour d'Umuline rapide®: insuline humaine (A) et métacrésol (B) avec les prolongateurs en PVC, PE, PE/PVC.

NS = non significatif, ■■■ valeur théorique

ii. Novorapid®

La figure 39 résume les quantités cumulées obtenues pendant 8 heures de perfusion avec la Novorapid®.

La quantité cumulée d'insuline asparte n'est pas statistiquement différente entre les trois différents matériaux et la quantité théorique (16 UI).

La quantité cumulée de phénol recueillie, pendant 8 heures de perfusion, avec le PVC ($150,1 \pm 48,5 \mu\text{g}$) est statistiquement différente de celle du PE ($238,6 \pm 0,7 \mu\text{g}$), du PE/PVC ($238,1 \pm 0,5 \mu\text{g}$) et par rapport à la quantité théorique ($240 \mu\text{g}$).

Quant au métacrésol, la quantité cumulée pendant 8 heures de perfusion est également statistiquement différente entre le PVC ($112,2 \pm 40,6 \mu\text{g}$) et le PE ($268,2 \pm 0,9 \mu\text{g}$), le PE / PVC ($268,6 \pm 1,2 \mu\text{g}$) et la quantité théorique ($275,2 \mu\text{g}$).

Les quantités cumulées d'insuline asparte, de phénol et de métacrésol ne sont significativement pas différentes entre le PE et le PE/PVC (p . Bonferroni = 0,0083).

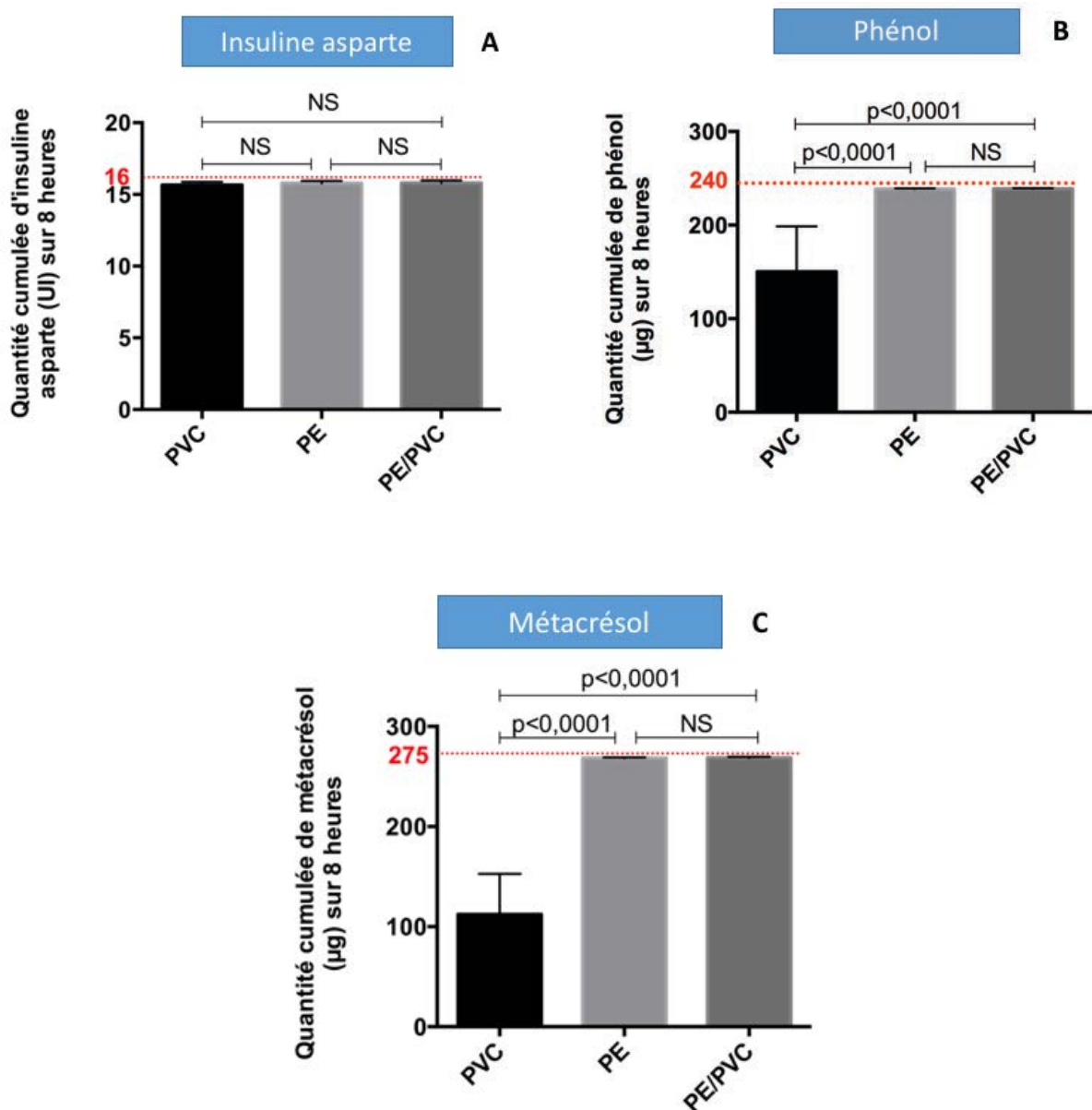


Figure 39 : Quantités cumulées recueillies pendant les huit premières heures de perfusion de l'insuline Novorapid®: insuline aspartate (A), phénol (B) et métacrésol (C) avec les prolongateurs en PVC, PE, PE/PVC.

NS = non significatif, ■■■ valeur théorique

d. Quantités recueillies pendant la 24^{ème} heure de perfusion

i. Umuline rapide®

La quantité d'insuline humaine n'est pas statistiquement différente quel que soit le matériau utilisé ($2,00 \pm 0,05$ UI, $2,00 \pm 0,05$ UI, $2,00 \pm 0,08$ UI pour le PVC, le PE et le PE/PVC respectivement) par rapport à la quantité théorique (2 UI).

Cependant, la quantité recueillie de métacrésol est statistiquement différente entre le PVC ($30,7 \pm 11,5 \mu\text{g}$) et le PE ($47,6 \pm 0,9 \mu\text{g}$), le PE/PVC ($47,7 \pm 0,6 \mu\text{g}$) et différente de la quantité théorique ($50 \mu\text{g}$) (figure 40).

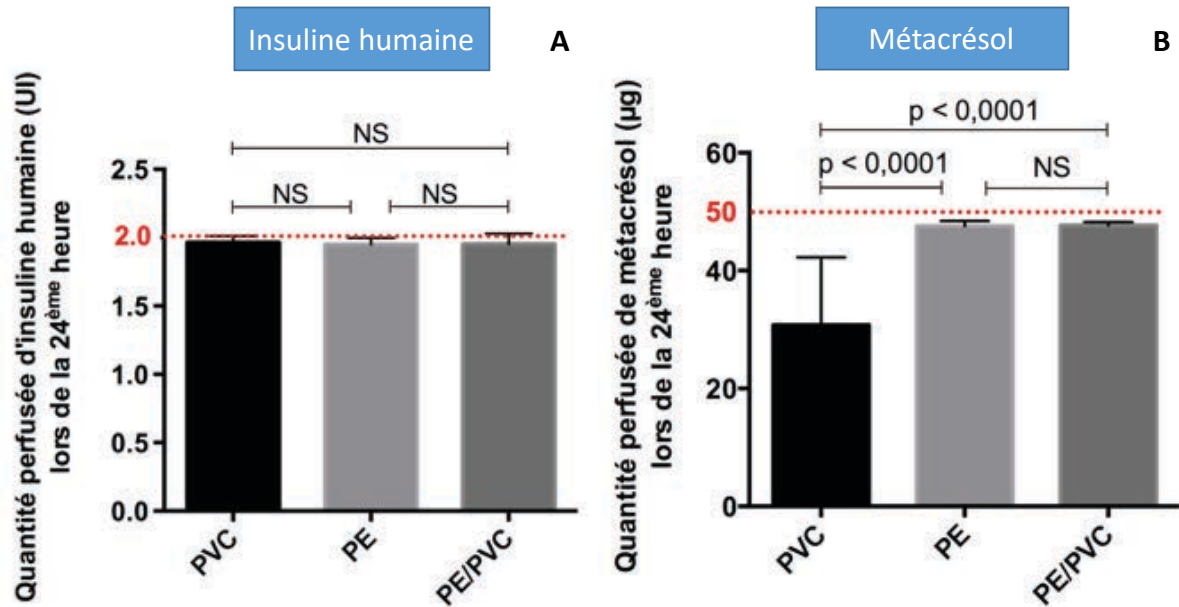


Figure 40 : Quantité perfusée pendant la 24^{ème} heure pour l'Umuline rapide®: insuline humaine (A) et métacrésol (B) avec les prolongateurs en PVC, PE, PE/PVC.

NS = non significatif, ■■■ valeur théorique

ii. Novorapid®

En ce qui concerne l'insuline asparte, la quantité perfusée lors de la 24^{ème} heure n'est statistiquement pas différente entre les trois matériaux ($1,97 \pm 0,03 \text{ UI}$; $2,00 \pm 0,03 \text{ UI}$; $1,99 \pm 0,02 \text{ UI}$ pour le PVC, le PE et le PE/PVC respectivement) et par rapport à la quantité théorique (2 UI).

Pour le phénol et le métacrésol, la quantité perfusée lors de la 24^{ème} heure est statistiquement différente entre le PVC ($22,1 \pm 7,1 \mu\text{g}$ et $21,4 \pm 5,4 \mu\text{g}$ respectivement) par rapport au PE ($29,6 \pm 0,2 \mu\text{g}$ et $32,9 \pm 0,2 \mu\text{g}$ respectivement), au PE/PVC ($29,4 \pm 0,3 \mu\text{g}$ et $32,7 \pm 0,3 \mu\text{g}$ respectivement) et aux quantités théoriques de $30,0 \mu\text{g}$ et $34,4 \mu\text{g}$ respectivement (figure 41) (p Bonferroni = 0,0083).

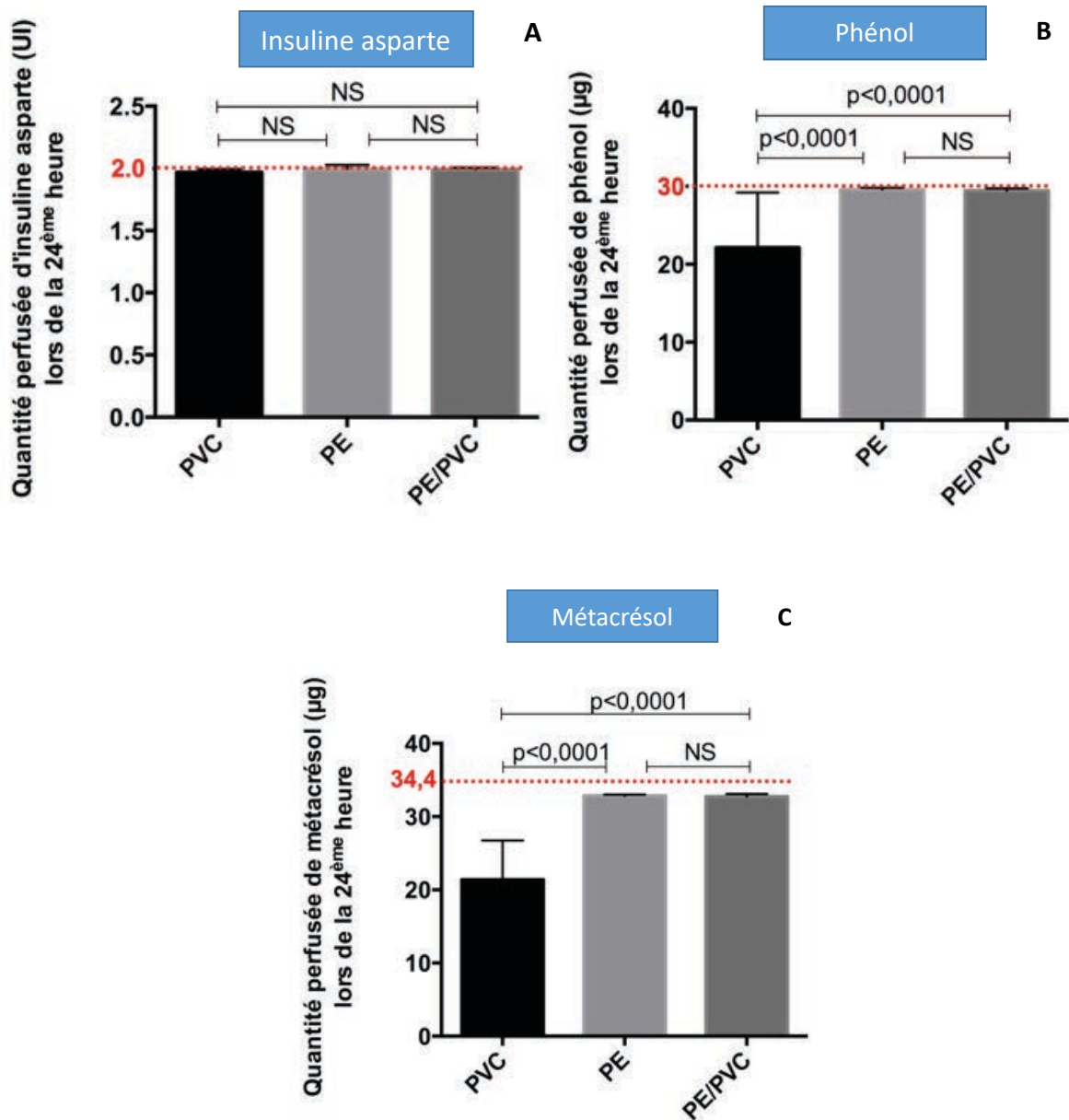


Figure 41 : Quantité perfusée pendant la 24^{ème} heure pour la Novorapid®: insuline aspartate (A), phénol (B) et métacrésol (C) avec des prolongateurs en PVC, PE, PE/PVC.

NS = non significatif, ■■■ valeur théorique

e. Comparaison de la sorption des insulines humaine et aspartate avec les différents matériaux

Les pertes d'insulines humaine et aspartate avec le PVC sont statistiquement différentes au cours des trois premières heures de perfusion (tableau 9). Après trente minutes de perfusion, l'insuline humaine est plus fortement adsorbée sur le PVC que l'insuline aspartate ($24,3 \pm 12,3\%$ et $8,8 \pm 4,6\%$ respectivement). Puis, après 1 heure de perfusion, c'est l'insuline aspartate qui est

très légèrement plus adsorbée que l'insuline humaine. Après 3 heures de perfusion, la différence n'est plus significativement différente.

Tableau 9 : Comparaison du pourcentage des deux insulines (humaine et asparte) recueillies pendant la perfusion avec des prolongateurs en PVC.

Temps (heure)	Pourcentage (%) d'insuline humaine recueillie (Umuline rapide®)	Pourcentage (%) d'insuline asparte recueillie (Novorapid®)	P
0,5	75,7 ± 12,9	91,2 ± 4,6	< 0,0001 *
1	98,3 ± 4,9	94,9 ± 3,9	0,0003 *
2	100,3 ± 2,2	97,1 ± 2,8	0,0004 *
3	100,6 ± 2,8	98,5 ± 0,9	0,014 *
4	99,5 ± 1,8	99,2 ± 1,0	0,452
5	99,3 ± 2,6	98,7 ± 2,0	0,101
6	99,7 ± 2,9	99,2 ± 2,7	0,392
7	99,1 ± 2,4	98,7 ± 2,2	0,288
8	99,4 ± 2,4	98,6 ± 2,0	0,260
24	98,1 ± 2,3	97,2 ± 3,3	0,427

* Différence statistiquement significative (p = 0,05)

Après 30 minutes de perfusion avec les prolongateurs en PE, la perte d'insuline asparte (10,8 ± 5,3%) est significativement différente de celle de l'insuline humaine (3,1 ± 1,6%) (p = 0,005). Le pourcentage d'insuline recueillie est statistiquement différent au cours des deux premières heures de perfusion entre les deux types d'insuline (tableau 10).

Tableau 10 : Comparaison du pourcentage des deux insulines (humaine et asparte) recueillies pendant la perfusion avec des prolongateurs en PE.

Temps (heure)	Pourcentage (%) d'insuline humaine recueillie (Umuline rapide®)	Pourcentage (%) d'insuline asparte recueillie (Novorapid®)	P
0,5	96,9 ± 1,6	89,2 ± 5,3	0,005*
1	100,9 ± 1,2	98,3 ± 2,4	0,013*
2	100,7 ± 1,0	99,2 ± 1,2	0,013*
3	100,2 ± 1,3	99,7 ± 1,8	0,377
4	100,2 ± 0,8	99,9 ± 1,6	1,000
5	99,2 ± 1,4	98,9 ± 1,6	0,930
6	99,6 ± 0,9	99,3 ± 1,2	0,659
7	99,8 ± 0,6	98,5 ± 2,4	0,536
8	99,6 ± 1,0	99,2 ± 1,7	0,708
24	97,6 ± 2,3	99,9 ± 1,6	0,042*

* Différence statistiquement significative (p = 0,05)

Pour les prolongateurs en PE/PVC (tableau 11), la perte d'insuline humaine (18,6 ± 10,0%) est statistiquement différente de celle de l'insuline asparte (7,2 ± 5,1%) pendant les 30 premières minutes de perfusion (p = 0,001). Après une heure de perfusion, aucune différence n'est mise en évidence entre les deux insulines (p = 0,561).

Tableau 11 : : Comparaison du pourcentage des deux insulines (humaine et asparte) recueillies pendant la perfusion avec des prolongateurs en PE/PVC.

Temps (heure)	Pourcentage (%) d'insuline humaine recueillie (Umuline rapide®)	Pourcentage (%) d'insuline asparte recueillie (Novorapid®)	P
0,5	81,4 ± 10,0	92,8 ± 5,1	0,001*
1	95,9 ± 4,7	95,4 ± 5,1	0,561
2	100,5 ± 4,0	98,0 ± 2,7	0,263
3	100,2 ± 3,8	99,0 ± 1,6	0,407
4	99,7 ± 2,9	99,2 ± 1,8	0,772
5	99,5 ± 3,3	99,9 ± 0,9	0,361
6	99,0 ± 1,4	99,5 ± 1,5	0,056
7	98,1 ± 2,9	99,3 ± 1,4	0,263
8	98,4 ± 3,2	99,4 ± 1,4	0,226
24	99,1 ± 3,8	99,7 ± 0,8	0,081

* Différence statistiquement significative (p = 0,05).

f. Comparaison de la sorption du métacrésol présent dans les 2 formulations d'insuline avec les différents matériaux

Le métacrésol contenu dans les deux spécialités pharmaceutiques d'insuline est comparé pour chaque matériau par un test de Mann-Whitney (p=0,05). Le phénol, quant à lui, n'a pas pu être comparé car il n'est présent que dans la spécialité Novorapid®.

Les pertes de métacrésol contenu dans l'Umuline rapide® et dans la Novorapid® sont statistiquement différentes pendant les 30 premières minutes de perfusion avec le PVC (tableau 12) et avec le PE/PVC (tableau 14). En revanche, aucune différence significative n'est mise en évidence après 30 minutes pour le PVC et le coextrudé (PE/PVC) et avec le PE pendant toute la durée de la perfusion (tableau 13).

Tableau 12 : Comparaison du pourcentage de métacrésol recueilli contenu dans les deux insulines (Umluline rapide® et Novorapid®) pendant la perfusion avec des prolongateurs en PVC.

Temps (heure)	Pourcentage (%) de métacrésol recueilli (Umluline rapide®)	Pourcentage (%) de métacrésol recueilli (Novorapid®)	P
0,5	22,5 ± 12,5	49,7 ± 12,1	< 0,0001 *
1	26,8 ± 19,7	35,5 ± 6,9	0,003
2	41,1 ± 24,8	35,2 ± 13,5	0,804
3	45,2 ± 28,7	37,2 ± 18,9	0,353
4	48,7 ± 26,6	39,1 ± 20,0	0,231
5	50,5 ± 26,7	40,8 ± 20,4	0,215
6	52,4 ± 26,7	43,8 ± 21,4	0,307
7	53,7 ± 26,5	45,8 ± 21,6	0,342
8	55,4 ± 26,6	46,2 ± 20,5	0,342
24	64,0 ± 18,3	62,9 ± 15,8	0,773

* Différence statistiquement significative (p = 0,05).

Tableau 13 : Comparaison du pourcentage de métacrésol recueilli contenu dans les deux insulines (Umluline rapide® et Novorapid®) pendant la perfusion avec des prolongateurs en PE.

Temps (heure)	Pourcentage (%) de métacrésol recueilli (Umluline rapide®)	Pourcentage (%) de métacrésol recueilli (Novorapid®)	P
0,5	97,9 ± 2,1	98,6 ± 0,8	0,521
1	98,6 ± 1,6	98,5 ± 0,6	0,335
2	98,7 ± 1,6	98,9 ± 0,4	0,635
3	98,6 ± 1,6	98,8 ± 0,5	0,635
4	98,5 ± 1,6	98,9 ± 0,4	0,759
5	98,3 ± 1,6	98,7 ± 0,4	0,650
6	98,3 ± 2,0	98,7 ± 0,3	0,512
7	98,3 ± 1,7	98,2 ± 0,9	0,250
8	97,9 ± 1,7	98,2 ± 0,5	0,250
24	95,1 ± 1,8	96,6 ± 0,5	0,149

Tableau 14 : Comparaison du pourcentage de métacrésol recueilli contenu dans les deux insulines (Umuline rapide® et Novorapid®) pendant la perfusion avec des prolongateurs en PE/PVC.

Temps (heure)	Pourcentage (%) de métacrésol recueilli (Umuline rapide®)	Pourcentage (%) de métacrésol recueilli (Novorapid®)	P
0,5	96,9 ± 1,6	99,0 ± 0,4	< 0,0001 *
1	98,2 ± 1,3	99,0 ± 0,5	0,075
2	98,6 ± 1,1	99,1 ± 0,7	0,753
3	98,4 ± 1,2	98,9 ± 0,8	0,317
4	98,7 ± 1,0	98,9 ± 0,7	0,692
5	98,5 ± 1,1	98,7 ± 0,6	0,465
6	98,7 ± 0,8	98,6 ± 0,5	0,671
7	98,3 ± 1,3	98,5 ± 0,5	0,193
8	98,5 ± 1,1	98,4 ± 0,6	0,771
24	96,5 ± 1,2	96,8 ± 1,0	0,149

* Différence statistiquement significative (p = 0,05).

g. Analyse de la morphologie de la surface

La morphologie de la surface de trois matériaux des prolongateurs est observée par MEB avant et après la perfusion de Novorapid® (insuline asparte) à 1 UI/mL pendant 24 heures (figures 42 et 43). Nous n'observons aucune différence entre les prolongateurs avant et après la perfusion.

Sur la photo D de la figure 42 représentant la morphologie de surface du PE après la perfusion d'insuline, la partie de gauche correspond aux extrémités du prolongateur de perfusion qui a été coupé pour être analysé par MEB.

L'analyse n'a été réalisée que sur la Novorapid®, s'agissant de la formulation d'insuline qui contient les trois composés : l'insuline, le phénol et le métacrésol. En effet, pour rappel, l'Umuline rapide® n'est composée que de métacrésol, il n'y a pas de phénol dans la formulation et l'objectif de cette analyse était de voir si la sorption des trois composés pouvait altérer les matériaux des prolongateurs.

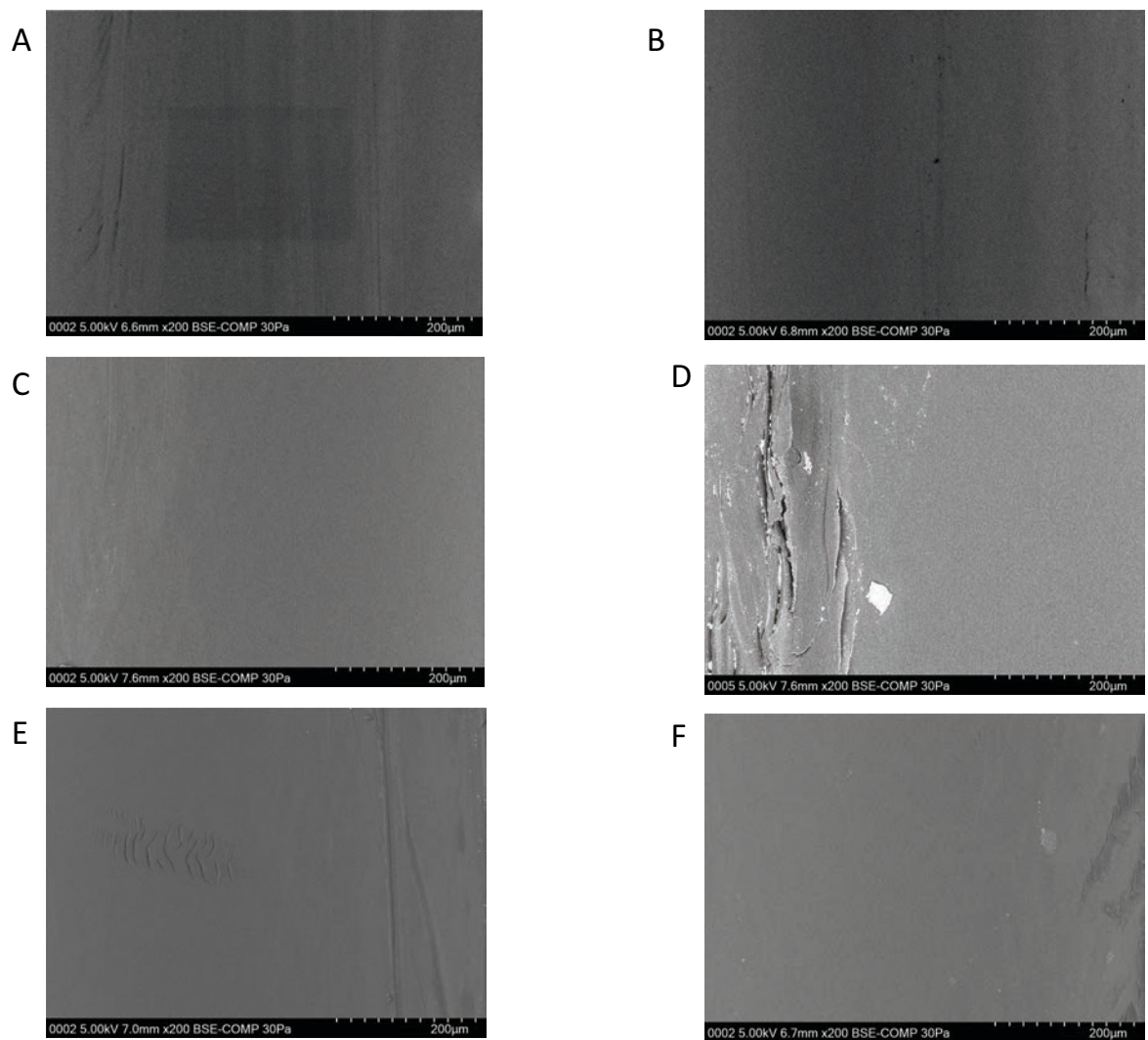


Figure 42 : Photos de microscopie électronique à balayage à un grossissement de $\times 200$ obtenues pour le PVC (A), le PVC après la perfusion de Novorapid[®] (B), le PE (C), le PE après la perfusion de Novorapid[®] (D), le PE/PVC (E) et le PE/PVC après la perfusion de Novorapid[®] (F).

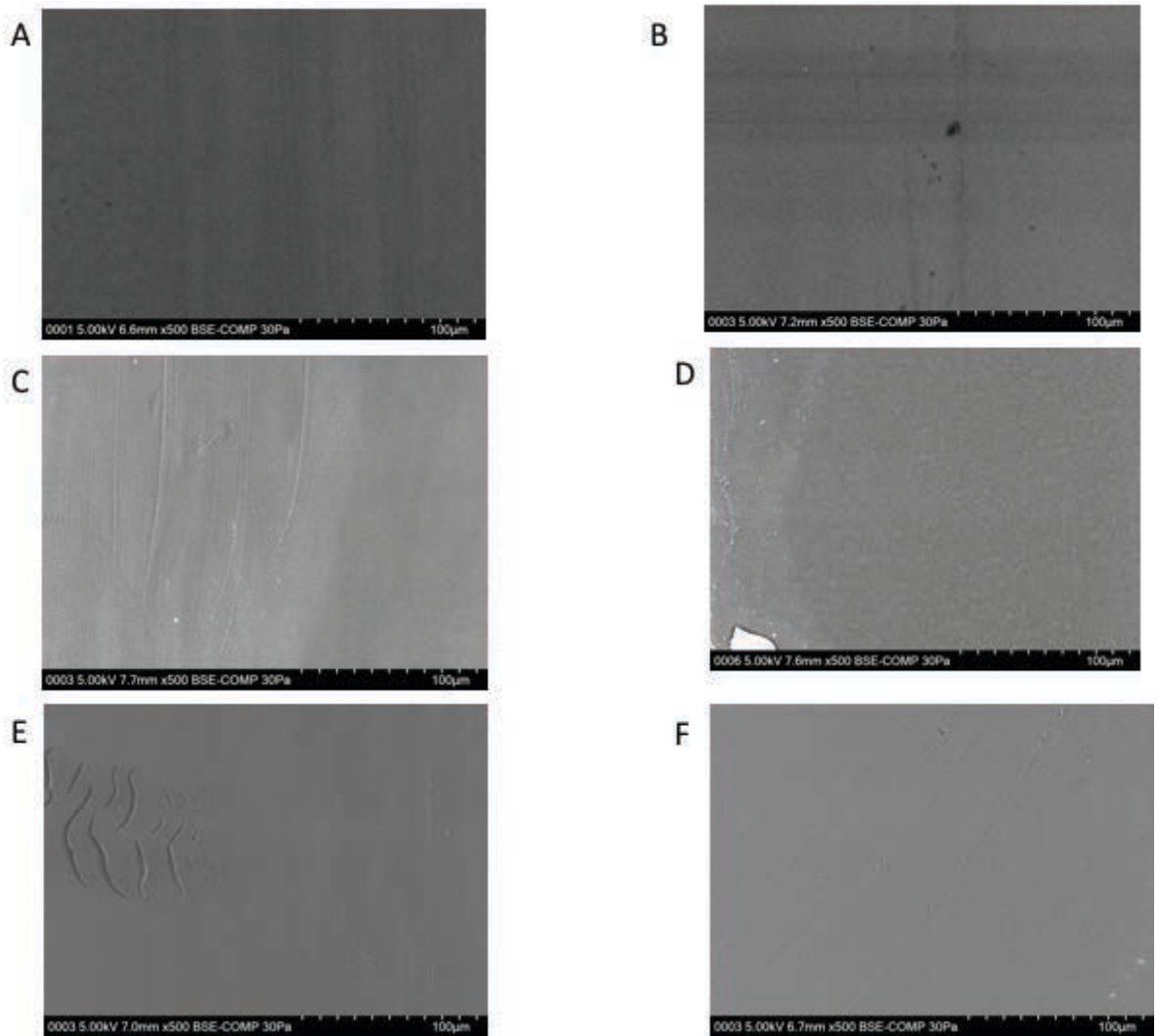


Figure 43 : Photos de microscopie électronique à balayage à un grossissement de $\times 500$ obtenues pour le PVC (A), le PVC après la perfusion de Novorapid® (B), le PE (C), le PE après la perfusion de Novorapid® (D), le PE/PVC (E) et le PE/PVC après la perfusion de Novorapid® (F).

3. Discussion / Conclusion

Cette étude montre que le choix des matériaux constitutifs des DMs de perfusion est primordial pour l'administration de médicaments. Nous avons montré qu'il existait une interaction entre l'insuline et les trois matériaux étudiés (PVC, PE et PE/PVC), mais également une interaction plus significative entre les conservateurs de l'insuline et le PVC. Le maximum de perte est observé pendant la première heure de la perfusion. Cependant, avec le PVC, les concentrations attendues de conservateurs ne sont jamais administrées aux patients. Les sites de fixation sur les prolongateurs sont rapidement saturés avec l'insuline mais pas avec les

conservateurs, en particulier avec le métacrésol. Toutefois, les analyses par MEB n'ont pas mis en évidence la présence des composés sur les prolongateurs après la perfusion de la Novorapid®.

Certaines études ont décrit des interactions entre l'insuline et le PE ou le PVC, mais beaucoup d'entre elles ont utilisé des méthodes analytiques non séparatives telle que la spectrophotométrie UV (103) et peu d'auteurs ont mis au point une méthode pour doser les conservateurs. De plus, aucune étude n'a évalué les interactions avec les analogues de l'insuline.

Dans les services de soins, les seringues d'insuline sont préparées toutes les 8 heures ou 24 heures selon les pratiques de service et horaires du personnel infirmier. La littérature indique une stabilité de l'insuline (Actrapid®) pendant 24 heures dans les seringues en polypropylène (201). Selon les pratiques de services, les prolongateurs peuvent être changés à chaque changement de seringue, toutes les 24 heures, voire toutes les 96 heures selon la nature physico-chimique du médicament perfusé. Cependant, il est courant de voir les prolongateurs de perfusion remplacés toutes les 24 heures pour limiter le risque d'infection. C'est pourquoi, nous avons réalisé cette étude sur 24 heures. De plus, l'utilisation de PSE limite le volume des seringues à 50 mL. Ainsi, selon les besoins en insuline des patients, une seringue ne peut pas être utilisée pendant plus de 24 heures.

L'interaction de l'insuline humaine ou l'insuline asparte avec le PVC est différente au cours des trois premières heures de perfusion. Après trente minutes de perfusion, la perte d'insuline humaine ($24,3 \pm 12,9\%$) est supérieure à celle de l'insuline asparte ($8,8 \pm 4,6\%$) et ce jusqu'à trois heures de perfusion. Les pertes sont statistiquement différentes, mais la perte d'insuline asparte devient plus importante à partir d'une heure de perfusion. Cette différence devient non significative le reste des 21 heures de perfusion avec des taux avoisinant les 100%. En revanche, lorsque l'on utilise des prolongateurs en PE, après 30 minutes de perfusion, la sorption de l'insuline asparte ($10,8 \pm 5,3\%$) est significativement différente ($p = 0,005$) à celle de l'insuline humaine ($3,1 \pm 1,6\%$) avec les prolongateurs en PE. Le phénomène inverse est constaté pour le PE/PVC, où la sorption est égale à $7,2 \pm 5,1\%$ et $18,6 \pm 10,0\%$ pour l'insuline humaine et l'insuline asparte respectivement.

Les résultats obtenus ne concordent pas avec ceux obtenus par Zahid *et al.* (103) qui ont trouvé une forte sorption de l'insuline humaine à 1 UI/mL sur les tubulures en PVC, 200 minutes après le début de la perfusion, avec un pourcentage d'insuline recueillie en sortie de prolongateur d'environ 55%. Ce résultat peut s'expliquer notamment par l'utilisation d'un plus faible débit de perfusion à 0,1 mL/h utilisé chez les nouveau-nés, alors que dans notre étude, le débit était égal à 2 mL/h. Le débit de perfusion de l'insuline lorsqu'elle est administrée en continu dépend de la glycémie. Lorsque la glycémie est comprise entre 1,8 et 2,5 g/L, le débit massique de perfusion de l'insuline est de 2 UI/h soit pour notre concentration d'étude un débit de 2 mL/h (202). Ces différences peuvent également s'expliquer par l'utilisation d'une technique analytique non-séparative (spectrophotométrie-UV) par Zahid *et al.* (103) A leur longueur d'onde d'analyse (210 nm), de nombreux composés, et plus particulièrement les conservateurs tels que le métacrésol, absorbent dans l'UV. Ainsi, il est très fortement probable que le signal analytique exploité par Zahid *et al.* (103) provienne à la fois des conservateurs et de l'insuline.

En revanche, avec des tubulures en PE, nos résultats de l'interaction entre l'insuline humaine et le PE concordent avec ceux de Zahid *et al.* (103). En effet, les auteurs ont également constaté une perte d'environ 5% de 1 UI/mL d'Actrapid® (insuline humaine) avec des tubulures de perfusion en PE à 1 mL/h 30 minutes après le début de la perfusion et dans notre étude la perte était de 3,1%.

Nos résultats ont cependant montré une interaction considérable entre les conservateurs et le PVC. Les deux conservateurs contenus dans la spécialité d'insuline asparte se sont comportés différemment selon les matériaux des prolongateurs. En effet, avec le PVC, le pourcentage de perte de métacrésol ($50,3 \pm 12,1\%$) est supérieur à celui du phénol ($39,7 \pm 19,6\%$) après trente minutes de perfusion. La même tendance est observée pendant toute la durée de la perfusion. Ainsi, à T24h, le pourcentage de perte est égal à $37,8 \pm 15,8\%$ et $26,3 \pm 10,3\%$ respectivement pour le métacrésol et le phénol. Par conséquent, la quantité théorique de conservateurs n'est jamais administrée aux patients. Il est à noter que ces conservateurs ne sont pas dépourvus de toxicité. Weber *et al.* (203) ont montré que le phénol et le métacrésol contenus dans les solutions d'insuline étaient à la fois cytotoxiques et pro-inflammatoires. Ils ont montré une toxicité de 1,2 mg/mL pour le phénol et de 0,6 mg/mL pour le métacrésol, ce qui indique que le métacrésol est plus toxique que le phénol. Il pourrait donc

être intéressant d'en perfuser moins au patient, compte-tenu de leur toxicité, mais se pose alors la question du maintien de la structure hexamérique de l'insuline tout au long de la perfusion pour garantir sa stabilité.

Les prolongateurs, utilisés dans cette étude, sont référencés sur le marché français, la diversité des longueurs et des diamètres internes de ces prolongateurs est adaptée aux pratiques cliniques et aux caractéristiques des patients. Ainsi, afin de comparer le plus grand nombre de prolongateurs par matériau, la surface interne de contact de chaque prolongateur a été utilisée. Cette diversité explique les grands écarts-types obtenus avec le PVC, puisque huit prolongateurs pour le PVC ont été utilisés, seulement trois et cinq pour le PE le PE/PVC respectivement (tableau 7) et que les valeurs de sorption dépendent de la surface de contact avec les matériaux. En effet, le pourcentage de perte dépend du diamètre interne et de la longueur du prolongateur. Ainsi, pour une même longueur, plus le diamètre interne est grand, plus la sorption est grande; et de même pour la longueur, plus elle est grande, plus la sorption est grande.

Le plastifiant, le DINCH, utilisé dans les prolongateurs en PVC a été identifié par notre méthode analytique développée dans la partie suivante (204) et peut avoir un impact sur la sorption des molécules de médicaments. En effet, des études (84,97) ont montré que certains médicaments (comme le diazépam) étaient plus adsorbés sur les tubulures en PVC plastifiées avec du DINCH que sur les tubulures plastifiées avec du DEHP, du TOTM et du DEHT.

Avec les tubulures en PE et PE/PVC, une légère perte de métacrésol est observée à la fin de la perfusion : $3,4 \pm 0,5\%$ et $3,2 \pm 1,0\%$ pour le métacrésol contenu dans la Novorapid®; $4,9 \pm 1,8\%$ et $3,5 \pm 1,2\%$ pour l'Umuline rapide® pour le PE et PE/PVC respectivement, probablement en raison du phénomène de perméation. Teska *et al.* (196) ont déjà noté l'évaporation du métacrésol dans des cathéters après 48 heures d'incubation à 37 ° C.

Les deux formulations d'insuline ne contiennent pas les conservateurs dans la même quantité. Le métacrésol est présent à la fois dans l'Umuline rapide® (2,5 mg/mL) et dans la Novorapid® (1,72 mg/mL). Or, les échantillons sont dilués au 1/100^{ème} afin d'obtenir une concentration d'insuline à 1 UI/mL. Les concentrations de métacrésol dans nos échantillons sont donc de 25

$\mu\text{g/mL}$ et $17,2 \mu\text{g/mL}$ dans l'Umuline rapide® et la Novorapid® respectivement. On remarque que le pourcentage de métacrésol recueilli est plus faible dans l'Umuline rapide® que dans la Novorapid® avec les prolongateurs en PVC pendant les deux premières heures de perfusion (tableau 12). *A contrario*, jusqu'à la 8^{ème} heure de perfusion le pourcentage recueilli est plus faible pour le métacrésol de la Novorapid® que de l'Umuline rapide®. La quantité cumulée après 8 heures de perfusion de métacrésol est respectivement de $160,1 \pm 86,9 \mu\text{g}$ [valeur théorique de $400 \mu\text{g}$] et de $112,2 \pm 40,6 \mu\text{g}$ [valeur théorique de $275,2 \mu\text{g}$] pour l'Umuline rapide® (figure 38) et la Novorapid® (figure 39). Toutefois, les pourcentages de pertes du métacrésol après 8 heures de perfusion sont similaires : $-60,0 \pm 21,7\%$ et $-59,2 \pm 14,8\%$ pour l'Umuline rapide® et la Novorapid® respectivement. Cela peut être expliqué par les quantités différentes de métacrésol présentes dans les spécialités commerciales. Toutefois, chaque insuline ayant ses propres conservateurs à des concentrations différentes, le profil de sorption peut être différent avec le PVC, ce qui aura donc un impact différent sur l'administration et le devenir du médicament.

Ces pertes de conservateurs peuvent avoir des conséquences sur la structure conformationnelle de l'insuline. Mollmann *et al.* (205) ont utilisé de la microscopie optique à fluorescence pour étudier l'adsorption de l'insuline humaine sur des particules de téflon. Ils ont conclu que l'insuline est adsorbée sur ce matériau hydrophobe avec une affinité élevée. Notre étude a montré des interactions entre l'insuline et le PVC qui est un polymère hydrophobe. Au contact de la surface hydrophobe, l'insuline change de conformation. En effet, les hexamères deviennent des monomères qui peuvent se fixer les uns aux autres et former des filaments (206) qui peuvent obstruer les cathéters (207). Dans les formulations pharmaceutiques, l'insuline est sous forme d'hexamères, conformation étant la plus résistante à la fibrillation et à la dégradation (115). Les conservateurs phénoliques permettent le maintien de l'insuline sous forme hexamérique et stabilisent les hexamères de l'insuline contre les réactions de déamidation et de réticulation intermoléculaire (116,117).

Teska *et al.* (196,208) ont montré que l'insuline asparte se détériorait plus rapidement lors de l'incubation à $37 \text{ }^\circ\text{C}$ sans conservateurs. Et dans une autre étude (209), l'utilisation de la chromatographie d'exclusion stérique a permis de montrer qu'avec de faibles concentrations (2 mM) de conservateurs, l'insuline asparte à 100 UI/mL est exclusivement éluee sous forme monomérique alors que 80% de l'insuline humaine à 100 UI/mL est éluee sous forme

hexamérique. Ces données montrent l'importance du maintien des quantités de conservateurs dans les formulations pharmaceutique d'insuline, même après dilution.

Des études complémentaires sont maintenant nécessaires pour évaluer l'impact clinique de la perte des conservateurs sur l'activité biologique de l'insuline.

Genay *et al.* (210) ont déjà montré qu'une ligne de perfusion optimisée (en termes de géométrie) pouvait diminuer l'incidence des événements hypoglycémiques. De même, une administration efficace d'insuline dépend des matériaux des DMs utilisés et de la formulation d'insuline choisie. Il convient donc maintenant de combiner l'optimisation du choix du matériau et de la géométrie de la ligne pour apprécier les effets sur la clinique des patients.

En conclusion, cette étude a montré que les insulines humaine et asparte présentaient une interaction non négligeable avec le PVC en début de perfusion, puis elle devient plus faible par la suite. Aucune interaction significative entre les insulines et les deux autres matériaux (PE ou PE/PVC) n'a été mise en évidence. Cependant, les conservateurs des insulines (le phénol et le métacrésol) sont adsorbés sur le PVC mais pas sur le PE ou le PE/PVC. Ainsi, les perfusions d'insuline doivent être réalisées avec des prolongateurs en PE ou en PE/PVC pour permettre l'administration de l'ensemble de la formulation pharmaceutique.

Cette première partie a permis d'illustrer les problèmes d'interactions et plus particulièrement de sorption qui existent entre les matériaux des DMs et les médicaments injectés aux patients. La seconde partie expérimentale va s'intéresser à la seconde problématique du PVC à savoir la présence de plastifiants contenus dans les DMs utilisés dans les services de soins.

II. Évaluation et dosage des plastifiants dans les dispositifs médicaux

1. Introduction

Le PVC est fortement rigide à température ambiante, il 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 DEHP. Mais celui-ci, identifié comme reprotoxique pour l'homme (43), 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 SCENIHR (43,44) 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 certain 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.

Le premier objectif de cette étude 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 nouvelle méthode analytique validée pour évaluer la robustesse de la technique analytique grâce à une analyse d'échantillons 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 équipes participant au projet ARMED dont les techniques analytiques sont différentes.

2. Matériels et méthodes

a. Solvants et matériels

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

L'acétonitrile, le méthanol et le tétrahydrofurane (VWR, Fontenay-sous-Bois, France) sont tous de qualité HiPerSolv Chromanorm[®] gradient grade et sont utilisés 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 ultrapure est également utilisée dans la méthode et est obtenue grâce au système UHQ pure water system (Elga Veolia, Wasquehal, France).

La verrerie est de classe A (VWR, Fontenay-sous-Bois, France). Les pointes de micropipettes [Eppendorf[®] Ioretention (Eppendorf[®], Fontenay-sous-Bois, France)] et les microtubes de centrifugation (Eppendorf[®], Fontenay-sous-Bois, France) sont en plastique dépourvu de plastifiants. 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...) sont lavés au THF, puis au méthanol et rincés à l'eau ultrapure avant chaque utilisation.

b. 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) qui est 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 (utilisé

en tant qu'étalon interne), DEHP, DEHT, DINP et TOTM est de 0,5 mg/mL et pour l'ATBC, DEHA et DINCH de 10 mg/mL. La première solution mère 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.

c. Méthode analytique

La méthode utilisée est celle précédemment mise au point au laboratoire par Radaniel *et al.* (77). Elle a été optimisée en vue d'utiliser la dérivée première des spectres UV pour séparer des composés co-élus. La méthode de dosage est développée avec le même système de chromatographie liquide ultra rapide que celui développé dans la partie précédente sur la sorption de l'insuline. Le système est piloté par le module i-PDeA™ du logiciel LabSolution® (Shimadzu®, Marne-La-Vallée, France).

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 15. 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™ C8 AJ0-8770 (Phénomenex®, Le Pecq, France) et d'une colonne Kinetex™ C8 2,6 µm 100 × 4,6 mm (Phénomenex®, Le Pecq, France).

Tableau 15 : Description de l'évolution du gradient d'élution utilisé dans la méthode de dosage des plastifiants.

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

d. Traitement du signal

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.

La dérivée première des spectres est une notion bien décrite dans la littérature. Parmar *et al.* (211) 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.* (212) ont dosé du losartan dans des comprimés. Pour être certains de doser le PA 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.* (213) ont utilisé la dérivée seconde du spectre du triméthopime dans le miel pour doser ce PA 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.* (214) ont dosé plusieurs PA (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 44. 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 détecteur à barrette de diode (DAD) et un logiciel de traitement des spectres sont nécessaires (logiciel i-PDeA™ Shimadzu®).

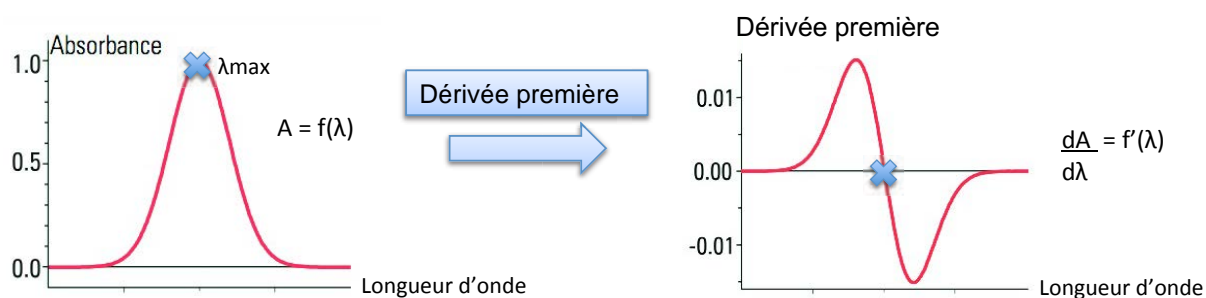


Figure 44 : Principe de l'utilisation de la dérivée première des spectres UV.

A : absorbance, λ : longueur 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.

e. Validation de la méthode analytique

La méthode est validée selon les recommandations proposées par Hubert *et al.* de la SFSTP (198,199). 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 préparation. 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 16) ont été réalisées, l'une contenant tous les plastifiants sauf le DEHA et l'autre contenant tous les plastifiants sans le DEHT.

Tableau 16 : Concentrations des standards de validation et des contrôles de qualité des plastifiants utilisés lors de la validation.

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

SV : standards de validation, CQ : contrôles de qualité

La méthode est validée selon les mêmes paramètres que l'insuline (spécificité, linéarité, exactitude...) (93).

f. Méthode d'extraction

Les plastifiants sont extraits du PVC selon une méthode publiée par Genay *et al.* (51). Environ 25 mg de l'échantillon de PVC sont pesés précisément et mis en contact avec 900 µL de THF et 100 µL 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 de toujours obtenir une concentration cible de 1 µg/mL (tableau 17).

Tableau 17 : Concentrations de la solution mère de l'étalon interne (BBP).

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

Ensuite, 500 µL du précédent mélange sont ajoutés à 500 µL de méthanol pour précipiter le PVC. Après 5 minutes de centrifugation (Centrifuge 5415R, Eppendorf, Le Pecq, France) à 13000 tours/minute, une partie surnageant est diluée dans de l'ACN. La dilution du surnageant dans l'ACN est adaptée à la capacité d'absorbance dans l'UV de chaque plastifiant (78). Ainsi, pour le DEHA et le DINCH, qui absorbent peu en UV, la dilution est de 1/10^{ème}, pour l'ATBC de 1/100^{ème} et pour le TOTM, DEHP, DINP et DEHT de 1/500^{ème} (figure 45).

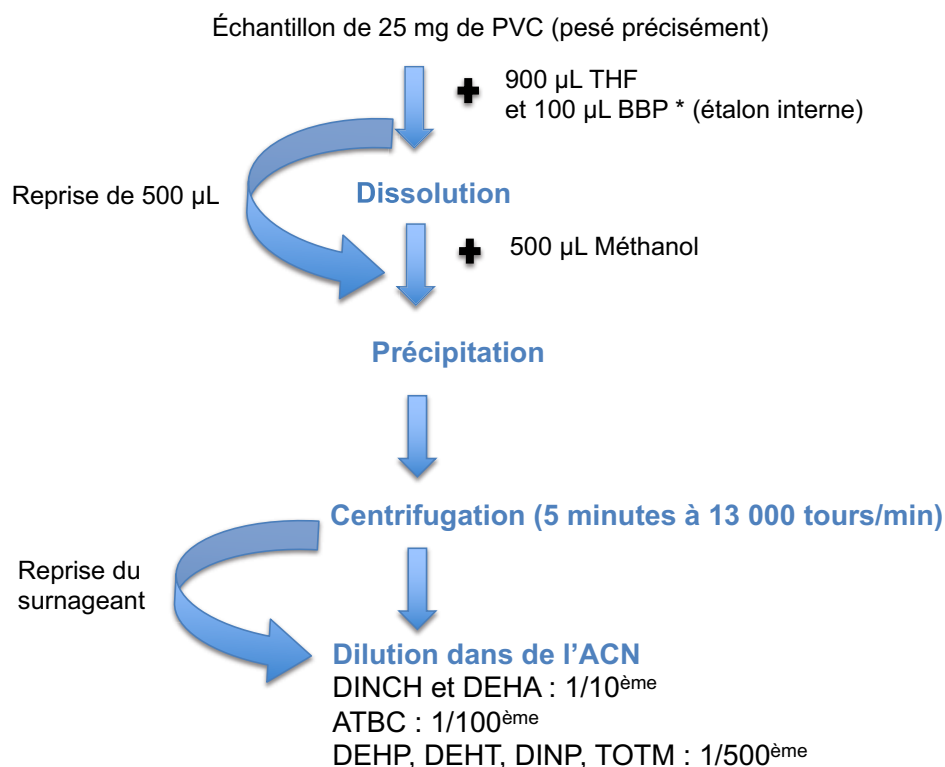


Figure 45 : Schéma de la méthode d'extraction des plastifiants.

ACN : acétonitrile, PVC : polychlorure de vinyle, THF : tétrahydrofurane

* Concentration en BBP variable, adaptée selon les dilutions ultérieures afin d'obtenir une concentration finale de 1 µg/mL.

g. Échantillons 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 18. 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 et la chromatographie en mode supercritique couplée à un détecteur DEDL (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 mentionnée si le DM en contenait.

La composition quantitative et qualitative en plastifiant de l'échantillon 10 (tubulure Med 80, Raumedic®) est connue seulement par le promoteur du projet. Pour les autres échantillons, leur composition qualitative et quantitative 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.

Tableau 18 : Liste des dispositifs médicaux analysés.

Échantillon	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)	

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.

3. Résultats

a. Développement de la méthode de dosage

Au cours d'une séquence analytique de 13 minutes, les huit plastifiants sont élués. Les temps de rétention (t_r) des plastifiants sont décrits dans le tableau 19.

Tableau 19 : Temps de rétention des plastifiants.

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

La figure 46a représente la co-élution DEHP/DEHA et la figure 46b la co-élution DEHT/DINP.

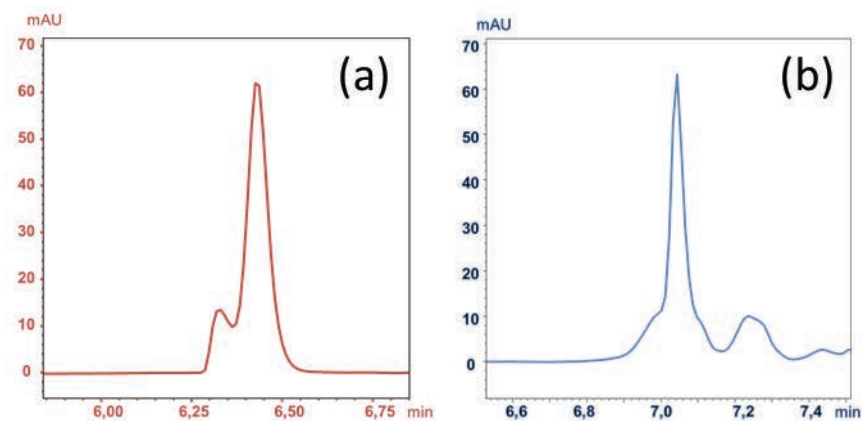


Figure 46 : Chromatogrammes illustrant la co-élution DEHP/DEHA (a) et la co-élution DEHT/DINP (b).

La figure 47 représente les spectres d'absorption dans l'UV du DEHP, du DEHA, du DEHT et du DINP.

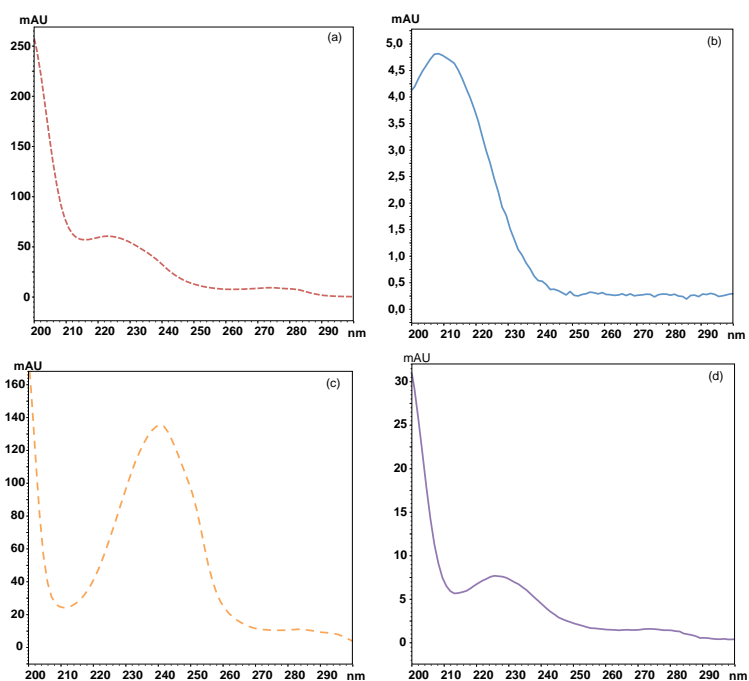


Figure 47 : Spectres d'absorption dans l'UV du DEHP (a), du DEHA (b), du DEHT (c) et du DINP (d).

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 (figure 48).

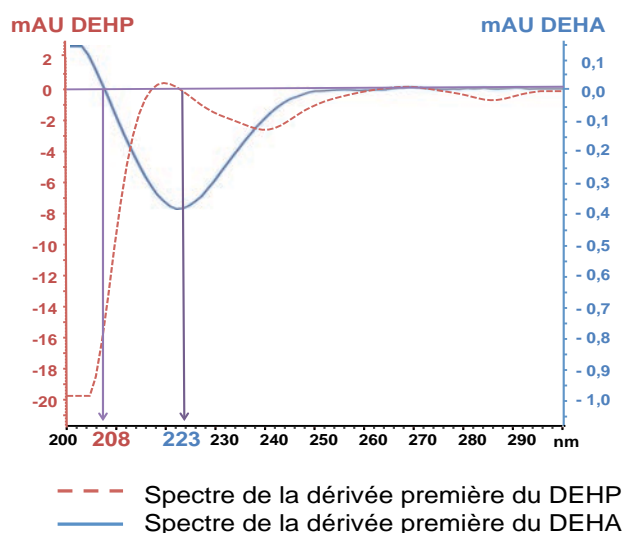


Figure 48 : Spectres des dérivées premières du DEHP et du DEHA.

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'absorbant que très faiblement, cette longueur d'onde n'a pas été retenue. Celle de 223 nm sera retenue pour le dosage du DEHA. 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 (figure 49). Ainsi, la longueur d'onde pour détecter le DEHT est 226 nm et pour le DINP 240 nm.

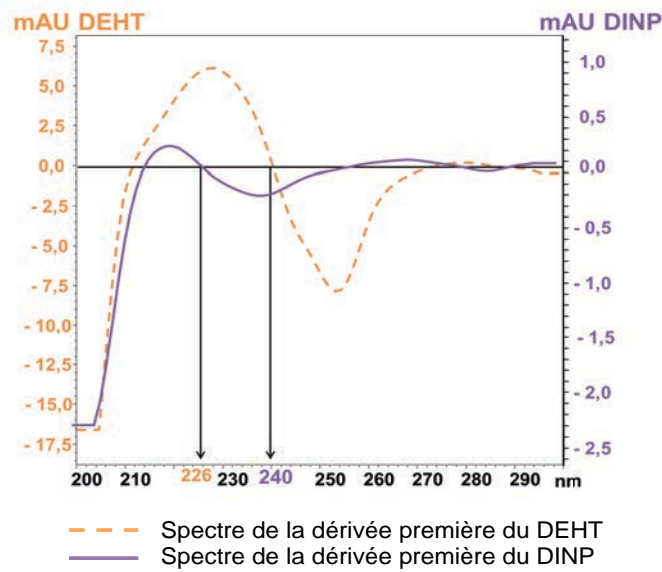


Figure 49 : Spectres des dérivées premières du DEHT et du DINP.

La figure 50 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, la somme des aires des deux pics majoritaires est utilisée.

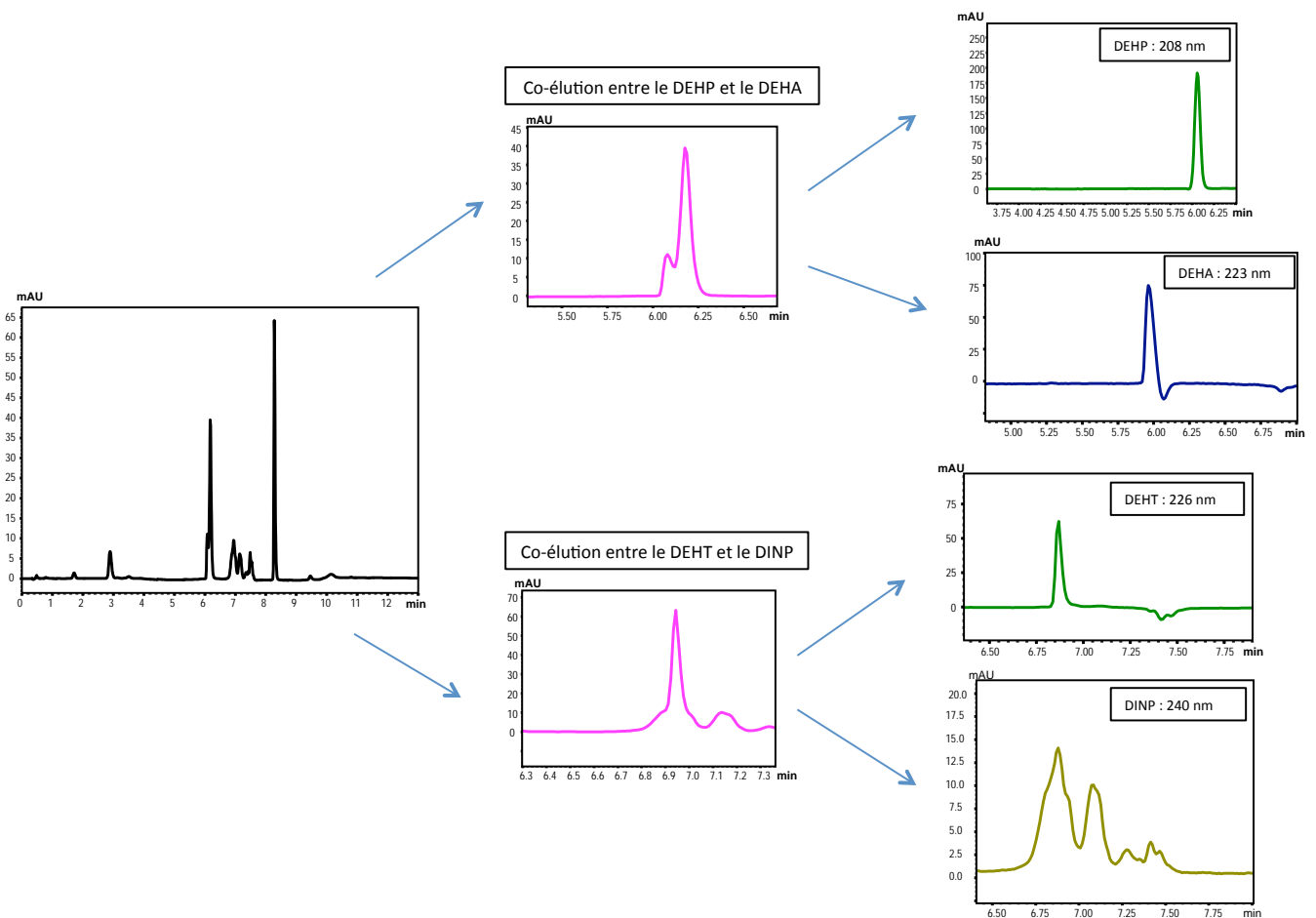


Figure 50 : Chromatogrammes représentant les coélutions et les composés seuls à la longueur d'onde déterminée par l'étude de la dérivée première.

Pour augmenter la sensibilité de la méthode développée par Radaniel *et al.* (77), les autres plastifiants sont analysés à la longueur d'onde correspondant à leur longueur d'onde d'absorbance maximale (figure 51). Les longueurs d'onde choisies sont résumées dans le tableau 20. Pour le BBP, la longueur d'onde d'analyse choisie est de 210 nm, bien qu'il ne s'agisse pas de sa longueur d'onde d'absorbance maximale. Toutefois, à la vue de son spectre UV, pour garder une bonne sensibilité et spécificité, il a été décidé de l'analyser à cette longueur d'onde.

Partie II. Évaluation et dosage des plastifiants dans les dispositifs médicaux

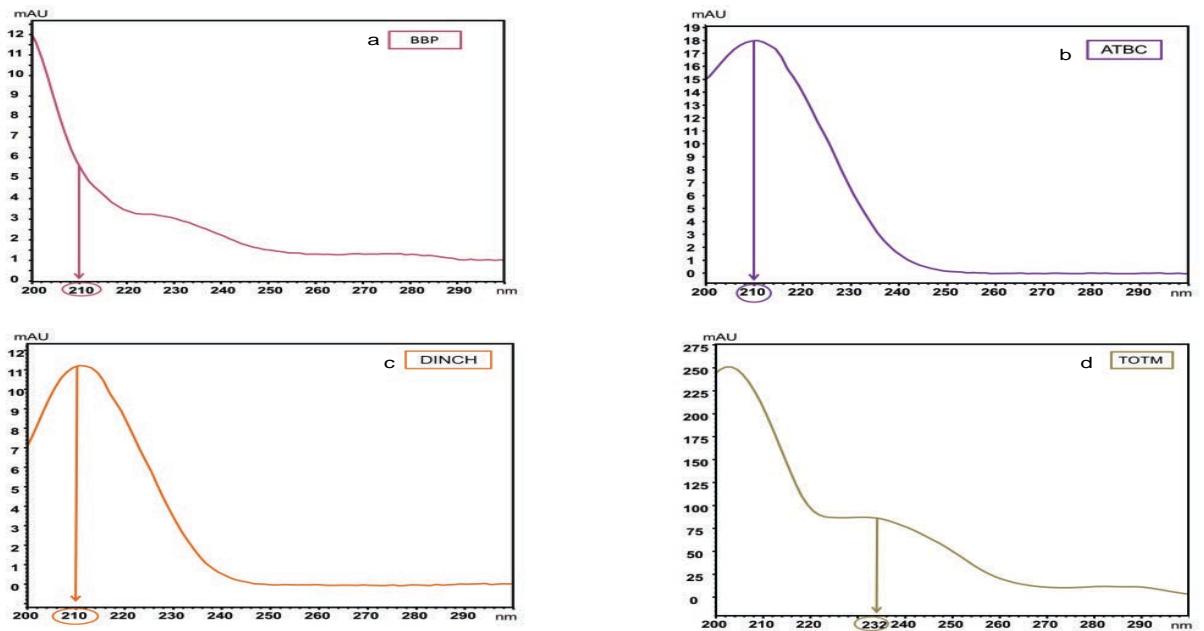


Figure 51 : Spectres d'absorption dans l'ultra-violet du BBP (a), de l'ATBC (b), du DINCH (c) et du TOTM (d).

Tableau 20 : Longueurs d'onde (nm) d'analyse pour chaque plastifiant étudié.

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

b. Validation de la méthode de dosage

L'homogénéité des variances est vérifiée par un test de Cochran, nous autorisant à réaliser une analyse de la variance. Les paramètres de régression de la méthode sont résumés dans le tableau 21. Les SV permettent de calculer l'équation de la droite de régression qui correspond à :

Équation 4 :

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

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. Les LD et LQ sont compatibles avec leurs détection et quantification en tant que plastifiant majoritaire ou minoritaire dans les DMs.

Tableau 21 : Paramètres de validation des gammes de plastifiants et les limites de détection et quantification.

Plastifiants	Concentrations ($\mu\text{g/mL}$)	r^2	Pente	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	0,0002	6,9	13,8
TOTM	0,3 - 40	0,9994	0,369	0,0008	0,2	0,3

La précision de la méthode a également été déterminée par les CQ, au travers des biais relatifs (BR) (tableau 22). Pour calculer ces biais, les concentrations mesurées sont calculées en utilisant la droite de calibration, puis en utilisant la formule décrite dans l'équation 5 :

$$\text{Équation 5 :} \quad \text{BR} = \frac{\text{Concentration mesurée} - \text{concentration théorique}}{\text{Concentration théorique}} \times 100$$

Les BR 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. La gamme de validation du DINP ne comporte que 5 points car la LQ est plus élevée (0,8 $\mu\text{g/mL}$) en comparaison au DEHP (0,2 $\mu\text{g/mL}$), DEHT (0,3 $\mu\text{g/mL}$) et TOTM (0,3 $\mu\text{g/mL}$). Les concentrations de 0,3 et 0,4 $\mu\text{g/mL}$ ont donc été supprimés car le DINP n'était pas détectable. Au vu du pourcentage de plastifiant présent dans les DMs (jusqu'à 40-50% m/m) et de notre protocole d'extraction, il n'était pas nécessaire d'étudier des concentrations plus élevées que 40 $\mu\text{g/mL}$ dans le cadre du DINP.

Partie II. Évaluation et dosage des plastifiants dans les dispositifs médicaux

Tableau 22 : Biases relatives pour chaque plastifiant étudié.

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

BR : biais relatifs en %, Conc. : concentration en µg/mL.

c. Échantillons de dispositifs médicaux analysés à l'aveugle

Le tableau 23 et la figure 52 résument les concentrations de plastifiants (moyenne ± écart type) calculés dans les 10 DMs étudiés à l'aveugle qui sont dosés en CLHP-DAD. Le tableau 24 correspond aux quantifications des plastifiants retrouvés avec les autres techniques qui ont participé au projet ARMED (70, 215).

Tableau 23 : Quantification des plastifiants retrouvés dans les dispositifs médicaux testés.

Échantillon	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	0,248 ± 0,016
			DEHP	0,125 ± 0,012
5	TOTM	30,835 ± 0,460	DEHT	0,134 ± 0,006
			DEHP	0,011 ± 0,002
6	TOTM	39,136 ± 0,087	DEHT	0,231 ± 0,045
			DEHP	NQ
7	TOTM	33,330 ± 0,642	DEHT	0,175 ± 0,003
			DEHP	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	1,329 ± 0,045
			DEHP	0,008 ± 0,003

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

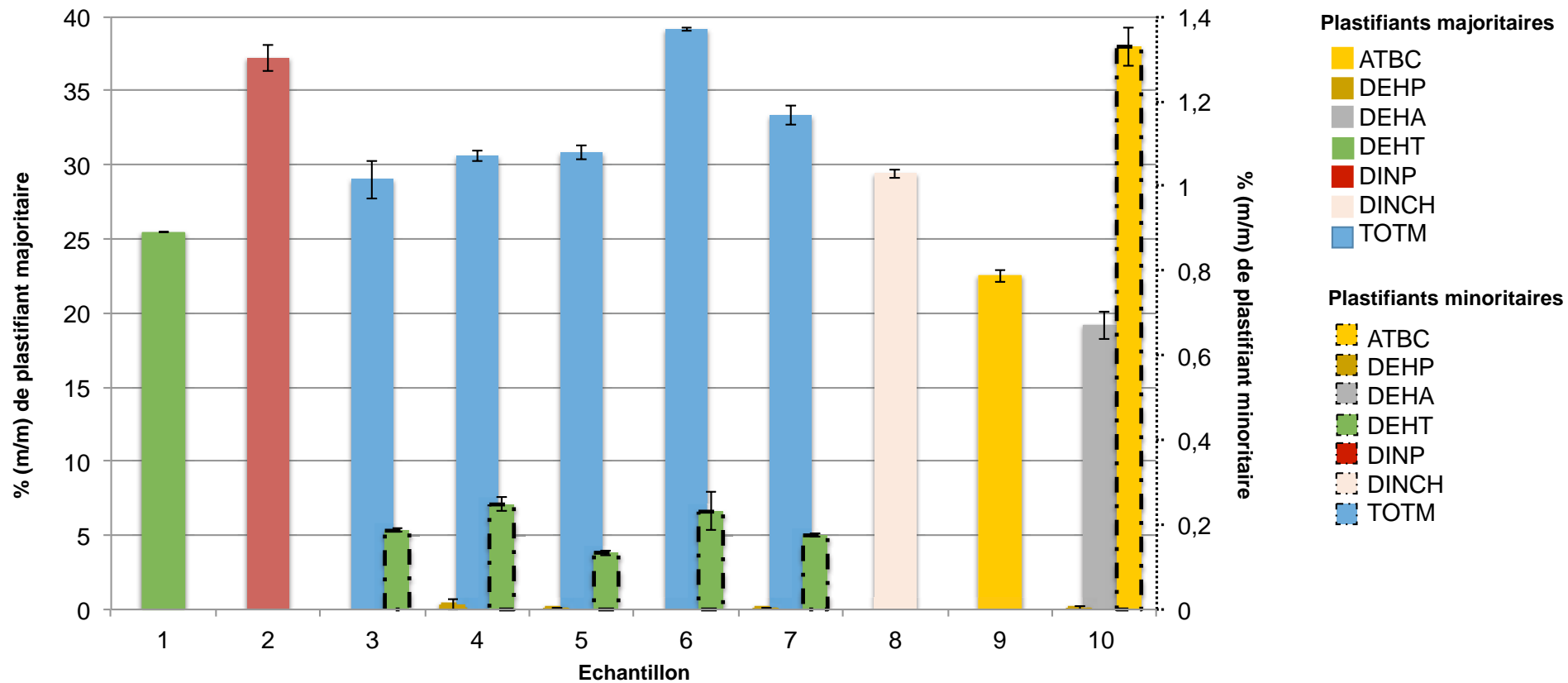


Figure 52 : Quantification des plastifiants retrouvés dans les dispositifs médicaux testés.

L'axe vertical de gauche correspond à l'échelle des plastifiants majoritaires et l'axe de droite l'échelle des plastifiants minoritaires.

Partie II. Évaluation et dosage des plastifiants dans les dispositifs médicaux

Tableau 24 : Quantification des plastifiants retrouvés dans les DMs testés par notre technique (CLHP-DAD) comparée aux autres techniques du projet ARMED (215). NQ : plastifiant non quantifié (la concentration est inférieure à la LQ). En orange : les plastifiants majoritaires. En noir : les plastifiants minoritaires.

Échantillon	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 : 2,6%
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% DEHT : 0,2% DEHP : 0,02%	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% DINP : 3,0% DEHP : 2,5% DEHT : 1,0%
6	TOTM : 39,1% DEHT : 0,2% DEHP : NQ	TOTM : 38,8% DEHT : 0,3% DEHP : 0,03%	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% DINCH : 0,5% DEHP : 0,02% DEHT : 0,06%	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% DEHT : 0,04% DEHP : 0,01%	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% ATBC : 2,6% DEHP : 0,03%	DEHA : 21,4% ATBC : 1,8% DEHP : NQ	DEHA : 21,7% ATBC : 2,6% DEHP : NQ	DEHA : 22,0% ATBC : 1,6%	DEHA : NQ	DEHA : 22,8% DEHT : NQ	DEHA : 16,0% ATBC : 9,0%

4. Discussion

a. 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 (77,78). 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 Lecoer *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.* (54) et de Gimeno *et al.* (53), 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 (216), permet la détection de ces sept plastifiants. Toutefois, comme pour la CG-SM, l'achat et la maintenance de cet appareil est 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.* (211), dans la revue de la littérature portant sur cette utilisation en spectrophotométrie sont retrouvés 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 de 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 BR, compris dans cette méthode entre 5 et 10 %. Les BR 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) (42), 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.* (54) montrent des LQ plus basses que les nôtres sauf pour le TOTM (0,5 µg/mL) et le DINP (1,5 µg/mL). La CG–SM et la CLHP–DAD sont deux techniques rapides pour détecter l'ensemble des plastifiants étudiés avec une bonne sensibilité. Toutefois, la CG–SM est plus difficile à obtenir dans une PUI compte-tenu des prix d'achat et de maintenance.

b. 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 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 de CLHP-DAD (tableau 24).

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 certains plastifiants, particulièrement pour le DINP, l'ATBC et le DEHA. De plus, la CG-FID retrouve des taux de plastifiants minoritaires (DEHP à 2,6% 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 CLHP-UV, CG-SM et en RMN (tableau 24). Lors du contrôle des DMs par l'ANSM, la CG-SM avait été utilisée pour permettre le dosage des différents plastifiants (52).

Pour l'échantillon 1, le DEHT est retrouvé à 25,4% par notre technique contre 21,8% pour la CLHP-UV ; 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 CLHP-UV (32,1%), 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). En revanche, les taux retrouvés de TOTM avec la technique par CLHP-UV sont inférieurs à ceux dosés avec les 3 autres techniques analytiques. Concernant l'échantillon 8 qui contenait du DINCH, comme plastifiant majoritaire, la quantification par notre technique (29,4%) est très proche de celle retrouvée en CG-SM (28,8%) et de celle de la RMN (32,4%), alors que le DINCH est non quantifiable avec la CLHP-UV. 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% et à 16,5% pour la CLHP-UV.

En conclusion de cette comparaison, les taux de plastifiants retrouvés avec notre technique CLHP-DAD sont proches de ceux de la CG-SM et de la RMN et toujours plus élevés que ceux de la CLHP-UV.

Parmi les plastifiants principaux, le DINCH, le DINP, l'ATBC et le DEHA sont les plastifiants les plus difficiles à doser, ils ont été 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 (53) 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 (49), 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 (47) 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. Le DEHT est rarement retrouvé comme plastifiant majoritaire dans les DMs.

Les résultats de l'échantillon 10 (prototype d'une tubulure plastifiée au DEHA), considéré comme l'échantillon de référence puisque sa concentration était la seule connue par le promoteur du projet, 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, c'est-à-dire dans la poudre (22%), non pas celle mesurée par Raumedic® dans le produit fini. Les méthodes qui ont retrouvé 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 des 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 ont 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).

c. 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 Lecoer *et al.* (78), 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 de 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 Lecoer *et al.* (78) 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 PUI et donc peu accessible, ce détecteur est en effet très coûteux.

Finalement, la méthode de CLHP–DAD permet 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 (49) 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, cette méthode de dosage mise au point sera utilisée dans la partie suivante de la thèse pour évaluer la migration des plastifiants contenus dans du PVC fonctionnalisé par différentes techniques.

5. 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 d'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.

III. Fonctionnalisation des dispositifs médicaux

1. Introduction

Comme relaté dans l'introduction, les nombreux avantages du PVC dans le domaine médical expliquent sa grande utilisation dans les services de soins. Toutefois, au travers de deux exemples, nous avons pu constater que son utilisation n'était pas sans risque pour le patient. D'une part, par la sorption des médicaments, qui peut conduire à un sous-dosage médicamenteux (avec le diazépam (DZP) et le dinitrate d'isosorbide (DNIS) par exemple) ou à la perte de conservateurs dans la formulation du PA (avec l'insuline, par exemple). D'autre part, par la migration des plastifiants du PVC dans la solution médicamenteuse en contact direct avec le patient. Ce qui pose des problèmes de sécurité puisque les plastifiants sont potentiellement toxiques pour l'homme. Pour cela, une méthode de dosage de tous les plastifiants contenus dans le PVC a été mise au point, comme nous venons de l'expliquer dans la partie précédente. Dans cette dernière partie, l'étude est consacrée à la recherche de méthodes permettant de limiter la migration des plastifiants tout en empêchant au maximum la sorption des PA.

Les sections précédentes ont mis en évidence le potentiel de deux traitements très différents : (i) le traitement plasma froid basse pression, permettant, notamment avec un gaz inerte type argon, d'améliorer la réticulation d'extrême surface d'un substrat tout en augmentant son hydrophilie, et (ii) le revêtement de PDA, permettant de former une couche très adhérente à la surface de substrats polymères tout en permettant éventuellement le greffage covalent de molécules fonctionnelles. Ce revêtement facile à mettre en œuvre va permettre de créer une barrière entre le PVC et les PA et plastifiants, limitant ainsi les interactions contenu-contenant. Il a été décidé de travailler sur ces deux procédés (seuls ou combinés), afin de tenter de limiter la sorption des PA et la migration des plastifiants du PVC.

L'efficacité des traitements sera appréciée par la réalisation :

- i) D'études de sorption des PA en prenant le diazépam (DZP) comme molécule traceuse, car elle est connue pour sa sorption dans les DMs de perfusion en PVC (88,97,135).
- ii) D'études de migration des plastifiants (TOTM et DINCH).

Au vu de la réglementation concernant l'utilisation restreinte du DEHP et de la grande utilisation des plastifiants alternatifs, il a été décidé pour la mise au point de la fonctionnalisation de travailler sur les deux plastifiants principalement retrouvés dans les DMs des services de soins, à savoir le TOTM et le DINCH (54,217).

Par ailleurs, des études de caractérisations physico-chimiques de la surface du PVC seront réalisées afin de comprendre les mécanismes engendrés par ces modifications de surface.

Le protocole des recherches réalisées est résumé dans la figure 53.

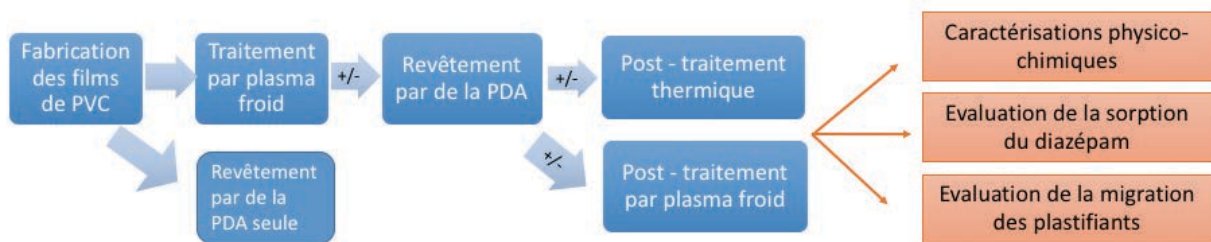


Figure 53 : Protocole expérimental.

Comme mentionné précédemment, des études de traitement par plasma froid basse pression à l'argon ainsi que des revêtements de PDA seuls ont été effectués. Au vu des résultats préliminaires obtenus, des combinaisons des différents traitements ont également été envisagées (traitement par plasma froid suivi d'un revêtement PDA) ainsi que des post-traitements (thermique ou par plasma froid basse pression). En effet, le traitement par de la PDA seule n'a pas permis de réduire la sorption du DZP et la migration des plastifiants.

Les différents échantillons obtenus ont été caractérisés, puis la sorption du PA (le DZP) et la migration des plastifiants (TOTM et DINCH) ont été évaluées.

2. Matériels et Méthodes

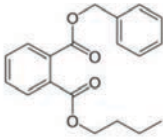
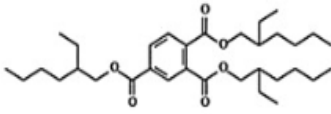
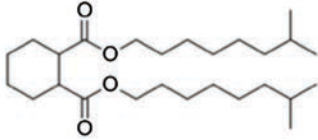
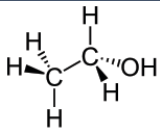
a. Produits et consommables utilisés

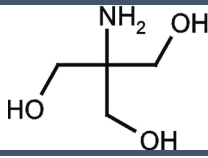
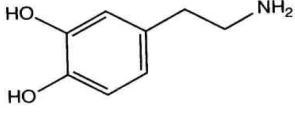
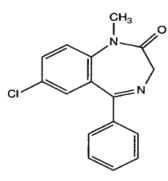
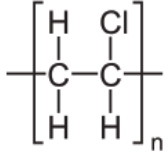
Les caractéristiques (fournisseur, structure, lot et utilisation) des principaux réactifs (le BBP, le DINCH, le TOTM, la dopamine, le tampon TRIS® base, la poudre de DZP et la poudre de PVC non plastifié) sont répertoriés dans le tableau 25.

Des granulés de PVC plastifié au DINCH 30% (m/m) et au TOTM 35% (m/m) utilisés comme matières premières ont été gracieusement fournis par le laboratoire Cair LGL (Lissieu, France). Ils ont été utilisés pour la fabrication des feuilles et des films de PVC.

Le SSI et l'eau pour préparations injectables (EPI) proviennent de la société Baxter (Maurepas, France) et sont utilisés pour les études de sorption, de migration et d'extraction des plastifiants. L'eau ultrapure est obtenue par un système d'eau Elga Purelab (Veolia, Wasquehal, France).

Tableau 25 : Références des produits utilisés pour l'étude.

Nom	Fabricant	Lot	Formule	Utilisation
Benzylbutyl-phtalate (BBP)	Sigma-Aldrich (St-Louis, Etats-Unis)	#MKBH8959V		Étalon interne utilisé dans les études d'extraction des plastifiants
Trioctyl Trimellitate (TOTM)	Sigma-Aldrich (St-Louis, Etats-Unis)	#MKBH8084V		Plastifiant utilisé pour les études de sorption, de migration et d'extraction
Di-isononyl-1,2-cyclohexane-dicarboxylate (DINCH)	BASF (Houston, Etats-Unis)	#14853775LO		Plastifiant utilisé pour les études de sorption, de migration et d'extraction
Éthanol 96%	VWR Chemicals (Fontenay sous-bois, France)	17A114009		Étude de sorption et de migration

Tampon TRIS	Sigma Life Science (St-Quentin, France)	#041M5415V		Tampon pour préparer la solution de PDA
Dopamine	Sigma (Issy-Les-Moulineaux, France)	#BCBR4608V		Molécule thérapeutique utilisée pour obtenir la polydopamine nécessaire à la fonctionnalisation de surface
Diazépam (DZP)	Cooper (Melun, France)	#0862200001		Molécule thérapeutique utilisée pour les études de sorption en tant que traceur
Poudre de PVC	Goodfellow (Lille, France)	LS481988		Étude de sorption, migration et extraction des plastifiants

b. Préparation des disques de PVC plastifié au DINCH et au TOTM

15 g de granulés de PVC plastifié par du DINCH 30% ou du TOTM 35% (données fournisseur) sont pesés et placés dans une presse (Polystat 200T, Servitec, Wustermark, Allemagne). Le processus de fabrication des films est décrit dans la figure 54. Ce processus permet l'obtention de disques de 10 mm de diamètre et de 0,2 mm d'épaisseur qui seront les échantillons étudiés dans la suite du travail.

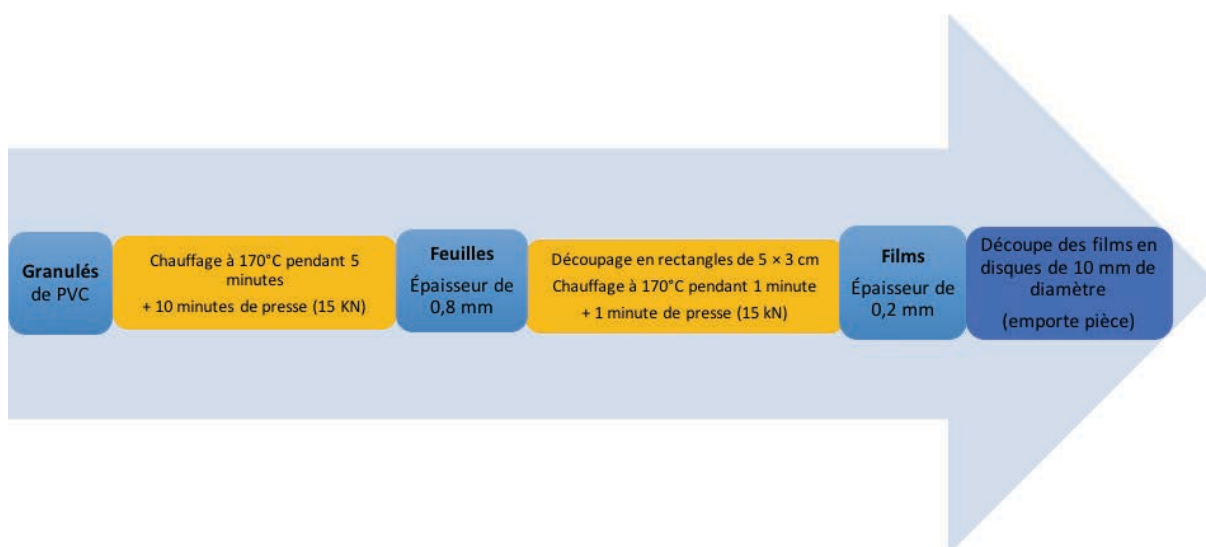


Figure 54 : Protocole suivi pour préparer les disques de PVC plastifié au DINCH et au TOTM.

c. Fonctionnalisation du PVC

i. Traitement par du plasma froid basse pression

Le plasma froid basse pression est généré dans une enceinte plasma (Appareil Europlasma CD1200-400 COMBI MC, générateur de radiofréquence Dressler, 13,56 MHz). L'argon est fourni par Air Liquid creative oxygen (Paris, France) qui donne une coloration rosée lorsque le plasma est allumé (figure 55).

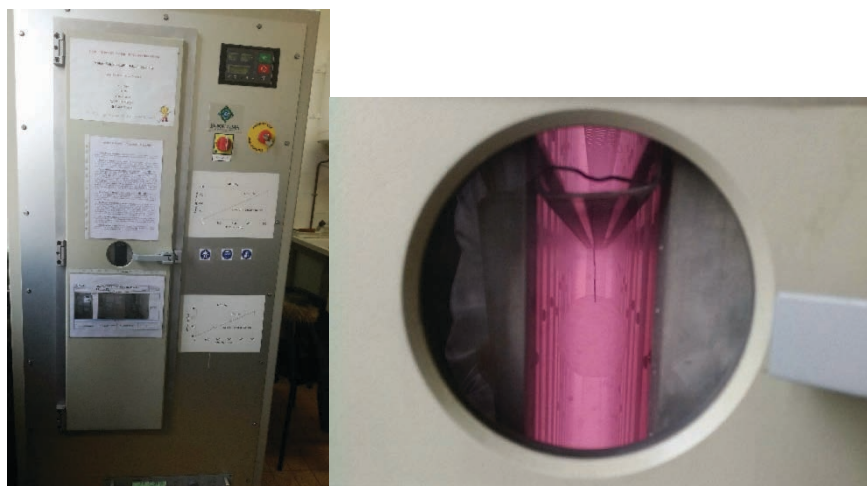


Figure 55 : Équipement Europlasma plasma froid à basse pression.

Différentes conditions plasma ont été testées sur la sorption du DZP en faisant varier différents paramètres : la puissance du champ électrique (en Watts), le temps de traitement (en secondes) et le débit (exprimé en « *standard cubic centimeter per minute - SCCM* ») qui quantifie le débit volumique d'un écoulement gazeux.

Des plans d'expériences réalisés préalablement (non présentés dans le manuscrit) ont permis d'identifier différentes conditions de traitement décrites dans le tableau 26.

Tableau 26 : Conditions de traitement par plasma froid basse pression.

Traitement Plasma	Puissance (Watts)	Débit SCCM (<i>Standard Cubic Centimeter per Minute</i>)	Durée (secondes)
Condition 1 (P1)	500 Watts	100	180
Condition 2 (P2)	500 Watts	850	60
Condition 3 (P3)	500 Watts	500	60

ii. Revêtement par de la polydopamine

La solution de dopamine est préparée à une concentration de 2 mg/mL à partir du tampon aqueux TRIS® (trishydroxyméthylaminométhane, ou 2-amino-2-hydroxyméthyl-1,3-propanediol, 242 mg de tampon TRIS par mL de solution de dopamine) et de dopamine, après l'ajustement du pH à 8,5 avec de la soude (NaOH) concentrée. La PDA est obtenue par polymérisation oxydative de la dopamine, lorsque celle-ci est mise en contact avec le tampon aqueux TRIS®. Les disques de diamètre 10 mm sont immergés dans 5 mL de la solution de dopamine et placés sous agitation pendant 16 heures (agitateur orbital, IKA•KS 260 basic, Dutscher, Brumath, France) à 400 tours par minute, à température ambiante, à l'abri de la lumière, dans des flacons en verre fermés.

Les films recouverts d'une couche de PDA sont ensuite placés dans un bécher d'eau ultrapure puis exposés 5 minutes aux ultrasons afin d'éliminer la PDA non fixée sur le disque. Puis les échantillons sont séchés à l'étuve ($T^{\circ} = 60^{\circ}\text{C}$) pendant 5 minutes (Étuve Binder, ED 400, Tuttlingen, Allemagne).

iii. Réticulation

Une troisième stratégie de fonctionnalisation consiste à réticuler la couche de PDA pour essayer de créer une barrière physique empêchant la sorption des PA et la migration des plastifiants. Cette réticulation a été testée soit par un post-traitement thermique (140°C , 1h) soit par un post traitement plasma froid argon.

Post-traitement thermique

Le post-traitement thermique est appelé dans la suite du manuscrit « recuit », bien que ce terme soit plus utilisé pour les métaux. Ce traitement a pour but de favoriser la réticulation de la couche de PDA à la surface du PVC afin d'améliorer la réduction de la sorption et de la migration des plastifiants. Il a, en effet, été démontré dans la littérature que le traitement thermique permettait de consommer les fonctions amines et de former des dérivées indoles, ce qui réticulait la PDA (181,218).

Post-traitement par plasma froid basse pression

Les disques fonctionnalisés par une couche de PDA ont été retraités par plasma froid basse pression d'argon afin d'évaluer si cette technique permettrait de réticuler également la PDA. Il n'y a cependant pas de littérature relative à ce sujet. Les conditions de traitement sont les mêmes que celles décrites dans le tableau 26. Ainsi, les disques traités par la condition 1 (P1) sont retraités par P1, de même pour les conditions plasma 2 et 3.

Dans les sections suivantes, les différentes appellations des échantillons sont les suivantes :

- Les échantillons traités par plasma seul seront appelés : « P1, P2 et P3 » selon la condition de traitement par plasma;
- Ceux traités par plasma et revêtus d'une couche de PDA : « P1+PDA, P2+PDA et P3+PDA » ;
- Les échantillons fonctionnalisés par du plasma, PDA et recuits seront nommés : « P1+PDA+R ; P2+PDA+R et P3+PDA+R » ;
- Enfin, les échantillons traités par du plasma, PDA et plasma seront appelés : « P1+PDA+P1 ; P2+PDA+P2 et P3+PDA+P3 ».

d. Caractérisations physico-chimiques du PVC

i. Analyse thermogravimétrique

L'analyse thermogravimétrique (ATG) est une technique d'analyse thermique qui permet de mesurer la variation de masse d'un échantillon en fonction du temps, pour une température ou un profil de température donné. L'ATG est réalisée à partir d'un analyseur thermogravimétrique constitué d'un porte-échantillon en silice. Cette analyse thermique est réalisée sur les granulés de PVC plastifié au TOTM et au DINCH (n = 1). Dans notre cas, les analyses ont été effectuées de la température ambiante (+20°C) à +250°C avec une rampe de température de 10°C/min afin de vérifier qu'aux températures pressenties de fabrication des feuilles et des films et de recuit, les plastifiants ne soient pas altérés.

ii. Calorimétrie différentielle à balayage

La calorimétrie différentielle à balayage (*differential scanning calorimetry* – DSC) est une technique d'analyse thermique qui permet de mesurer des échanges de chaleur entre un échantillon à analyser et une référence (l'air par exemple). Cette technique permet également de déterminer les transitions de phases comme la température de transition vitreuse (T_g), la température de fusion et la température de cristallisation. Les analyses sont réalisées sous balayage d'un gaz inerte (l'azote) afin d'éviter toute réaction du matériau à étudier avec l'atmosphère du four. Les différents échantillons ont été analysés par une DSC Mettler-Toledo SAS (Viroflay, France). Deux cycles de chauffe de -70°C jusqu'à $+200^{\circ}\text{C}$ ont été réalisés de façon à observer les transitions de phases avec une rampe de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Différents échantillons ont été testés afin de vérifier que la fabrication des films par la presse et le recuit n'altéraient pas le PVC. ($n=1$).

iii. Angle de contact

Les modifications de l'hydrophilie de la surface du PVC suite aux traitements ont été appréciées par une mesure de l'angle de contact.

L'hydrophilie de la surface des films PVC plastifiés au DINCH ou au TOTM a été évaluée par des mesures d'angle de contact à l'eau ultrapure à l'aide d'un goniomètre KRUSS (Drop Shape Analyzer DSA 100, Hambourg, Allemagne). Cette analyse permet la caractérisation de la mouillabilité de surface des matériaux, en fonction de la forme de la goutte et de son angle de contact. Un angle de contact élevé souligne le caractère hydrophobe de la surface, tandis qu'un angle de contact à l'eau faible correspond à une surface hydrophile. Trois gouttes d'eau (d'un volume calibré de $2,0\ \mu\text{L}$) sont déposées sur chaque échantillon, avec trois mesures d'angle pour chaque goutte ($n = 9$ mesures d'angle pour chaque échantillon).

Les résultats sont exprimés par la moyenne des mesures réalisées pour chaque condition (en degrés) \pm écart-type.

Un test de Shapiro–Wilk testant la distribution normale des échantillons est réalisé. Les résultats nous ont ensuite permis de nous orienter vers un test non paramétrique de Kruskal-Wallis permettant la comparaison des valeurs d'angle de contact, pour chaque plastifiant, entre les différentes fonctionnalisations du PVC et le PVC non traité (PVC-NT).

iv. Spectrométrie Infrarouge à transformée de Fourier

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) permet d'évaluer de façon qualitative la surface modifiée. Les différentes analyses FT-IR ont été réalisées avec un spectromètre infrarouge Perkin Elmer® (Villebon-sur-Yvette, France) de modèle « *Spectrum one* ». Certaines analyses ont été effectuées par réflexion totale atténuée avec un cristal diamant monoréflexion. Le balayage en nombre d'ondes pour chacun des échantillons a été effectué entre 500 et 4000 cm^{-1} .

v. Microscopie électronique à balayage

La couche de PDA est observée par une analyse par microscopie électronique à balayage (MEB). Lors des manipulations, le MEB est réglé sur 5 kV, à un grossissement de $\times 3300$. Les échantillons analysés sont : PVC-DINCH fonctionnalisé par P2+PDA ; PVC-DINCH NT et du PVC-TOTM fonctionnalisé par P2+PDA ; PVC-TOTM NT.

vi. Cytotoxicité

La cytotoxicité des disques en PVC fonctionnalisés a été évaluée conformément à la norme ISO 10993-5 par le test d'extraction du milieu de culture pendant 24 heures. Des cellules MC3T3-E1 ont été utilisées. L'extraction des disques a été réalisée dans le même milieu que celui des cellules, alpha MEM, en respectant le ratio de 6 cm^2/mL pendant 24 heures à 37 °C et mis à 80 tours/minute sur un agitateur thermostatique. Le même jour, les cellules MC3T3-E1 ont été placées dans une plaque à 96 puits à une densité de 4000 cellules par puit et cultivées à 37°C pendant 24 heures. Le lendemain, le milieu d'extraction a été filtré à travers un filtre de 0,22 μm pour le stériliser; puis ce milieu filtré a été ajouté à une monocouche cellulaire à 100 $\mu\text{L}/\text{puit}$ et cultivé pendant 24 heures, à 37 ° C. Le milieu de culture dans chaque puit a été remplacé par du milieu de culture additionné de colorant Alamar Blue™ à 10% (v / v) et incubé 2 heures à 37 ° C. Après cette période d'incubation de 2 heures, l'intensité de la fluorescence a été mesurée par un fluorimètre Twinkle LB970 (Berthold Technology, GmbH & Co. KG, Bad Wildbad, Allemagne) à 560 nm. Neuf puits ont étéensemencés par type d'échantillon. Les résultats sont exprimés en pourcentage par rapport à la viabilité cellulaire obtenue avec le contrôle (TCPS, 100%).

e. Étude de la sorption du diazépam

L'un des objectifs de la fonctionnalisation du PVC est de limiter les interactions de ce matériau avec les PA. Pour cela, une molécule traceuse très sujette à la sorption a été utilisée, il s'agit d'une benzodiazépine, le DZP. Comme nous l'avons vu précédemment, cette molécule est lipophile (Log P = 2,86) (219) et de nombreuses études ont montré sa forte interaction avec le PVC (88,97,134,135).

i. Validation de la gamme

La gamme a été validée de 20 à 200 µg/mL, à partir de la poudre de DZP, sur trois jours par le même opérateur (93), au spectrophotomètre UV-2550 (Shimadzu, Marne la Vallée, France) à une longueur d'onde de 314 nm.

Une solution mère de DZP à 200 µg/mL a été préparée, contenant 10% d'éthanol à 96% afin de faciliter la dissolution du DZP, très peu soluble dans l'eau selon la Pharmacopée Européenne 9.5. Les solvants utilisés pour la solution mère sont 90% de SSI (NaCl 0,9%) et 10% d'éthanol à 96%.

A partir de cette solution mère, des solutions filles de différentes concentrations ont été préparées : 20 ; 40 ; 80 ; 100 ; 120 ; 180 et 200 µg/mL par dilution dans du SSI.

ii. Étude de sorption

L'étude est réalisée sur le DZP pendant 7 jours (J1, J2, J3, J6 et J7). Comme déjà mentionné, cette molécule est connue dans la littérature pour être adsorbée sur le PVC (88,97,134,135). Pour chaque fonctionnalisation du PVC, la sorption a été réalisée sur 10 disques de 10 mm de diamètre et de 0,2 mm d'épaisseur.

Une solution de DZP à 100 µg/mL est préparée, par dilution dans 10% d'éthanol à 96% et dans 90% de SSI. Chaque film est ensuite placé individuellement dans 20 mL de la solution de DZP, dans des flacons en verre fermés d'un volume de 30 mL (figure 56).

Les flacons sont ensuite stockés dans une enceinte climatique (Binder KBF P 240, Tuttlingen, Allemagne) à une température de +25°C et 60% d'humidité relative et à l'abri de la lumière, paramètres choisis selon les conditions de l'ICH (200) pendant les 7 jours de l'étude.

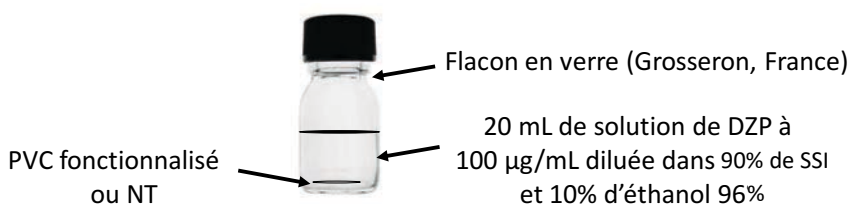


Figure 56 : Solution de DZP contenant un disque de PVC fonctionnalisé ou NT pour l'étude de la sorption.

Il a été vérifié au préalable que la solution de DZP à 100 µg/mL était stable pendant 7 jours dans ces conditions de conservation. Ainsi, toute diminution de la concentration de DZP correspondait à du DZP adsorbé à la surface du disque de PVC.

Les résultats sont présentés en pourcentage de DZP adsorbé sur le film sous la forme : moyenne ± écart type, pour faciliter leur lecture.

Pour quantifier l'efficacité du traitement par rapport au PVC-NT, l'écart relatif (ou le pourcentage de perte) par rapport au PVC-NT a été calculé selon l'équation 6 :

Équation 6 :

$$\% \text{ de perte} = \frac{(\text{DZP adsorbé sur le PVC fonctionnalisé} - \text{DZP adsorbé sur le PVC-NT})}{\text{DZP adsorbé sur le PVC-NT}} \times 100$$

Un test de Kruskal-Wallis a été réalisé pour déterminer s'il existe une différence significative entre les différentes conditions testées entre elles et par rapport au PVC-NT. Préalablement, un test de normalité (Shapiro-Wilk) a été effectué pour vérifier que la distribution des échantillons ne suivait pas une loi normale.

f. Extraction des plastifiants

Une extraction des plastifiants contenus dans les granulés, les feuilles et les films de DINCH et de TOTM a été effectuée afin de déterminer la concentration exacte en plastifiant (en % m/m), contenu dans les matières premières (n = 5).

L'extraction est également réalisée sur 5 disques directement après fonctionnalisation afin de vérifier que le taux de plastifiant n'est pas modifié suite à cette fonctionnalisation, ce qui pourrait modifier les propriétés finales du polymère. Après les essais de migration, une

extraction des plastifiants a également été réalisée afin de valider notre procédé de migration. Le pourcentage de plastifiant extrait directement après la fonctionnalisation et celui extrait après les essais de migration sont comparés par un test apparié de Wilcoxon ($p=0,05$) (figure 57).

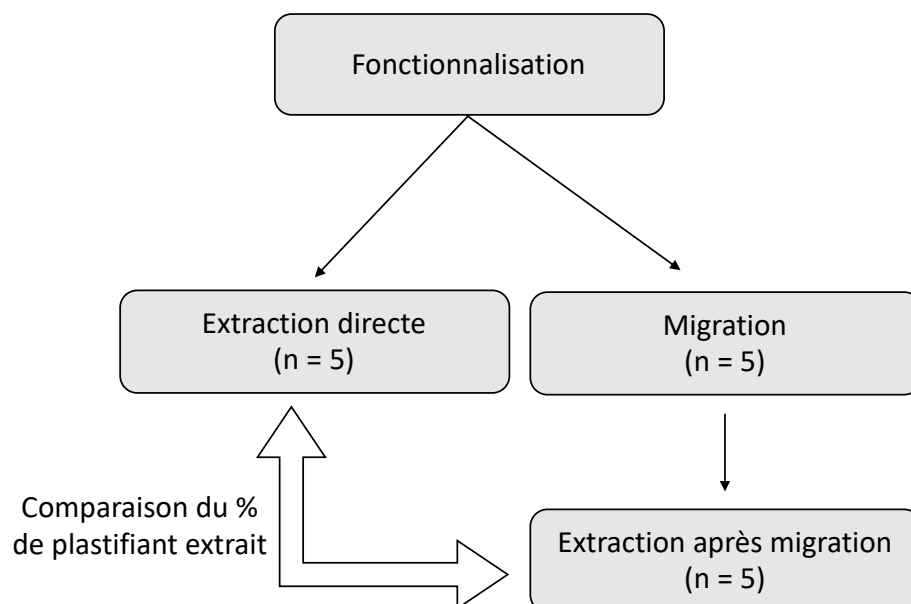


Figure 57 : Extraction des plastifiants directement après la fonctionnalisation et après la migration.

Pour cela, nous avons utilisé les méthodes d'extraction et de dosage décrites dans la partie précédente du manuscrit. Les plastifiants sont extraits du PVC selon une méthode publiée par Genay *et al.* (51). Environ 25 mg de l'échantillon de PVC sont pesés précisément et mis en contact avec 900 μL de THF et 100 μL de BBP (étalon interne) pendant une heure, pour dissoudre le PVC. Les concentrations de BBP ajoutés sont ajustées aux dilutions que doit subir l'échantillon de PVC pour l'analyse chromatographique, afin de toujours obtenir une concentration cible de 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (tableau 17).

Ensuite, 500 μL du précédent mélange sont ajoutés à 500 μL de méthanol pour précipiter le PVC. Après 5 minutes de centrifugation (Centrifuge 5415R, Eppendorf, Le Pecq, France) à 13000 tours/minute, une partie surnageant est diluée dans de l'ACN. La dilution du surnageant dans l'ACN est adaptée à la capacité d'absorbance dans l'UV de chaque plastifiant (78). Ainsi, pour le DEHA et le DINCH, qui absorbent peu en UV, la dilution est de $1/10^{\text{ème}}$, pour l'ATBC de $1/100^{\text{ème}}$ et pour le TOTM, DEHP, DINP et DEHT de $1/500^{\text{ème}}$ (figure 45).

g. Étude de la migration des plastifiants

i. Validation de la gamme

Les gammes sont validées selon les mêmes paramètres que ceux décrits dans la partie 1 sur la sorption de l'insuline et de ses conservateurs avec le polychlorure de vinyle (93).

TOTM

Une première solution mère à 500 µg/mL est fabriquée en pesant précisément 50 mg de TOTM et en le diluant dans 100 mL d'ACN. Puis, une solution fille est réalisée par dilution dans 100% d'éthanol 96% pour atteindre une concentration de 60 µg/mL. Les solutions petites-filles sont ensuite réalisées à des concentrations comprises entre 0,9 à 30 µg/mL par dilution dans de l'éthanol 96% et de l'eau ultrapure (50/50).

DINCH

Une solution mère est réalisée à 10 mg/mL en pesant précisément 500 mg de DINCH dans 50 mL d'ACN. Puis, une solution fille est fabriquée à 400 µg/mL et diluée dans 100% d'éthanol 96%. A partir de cette solution fille, des solutions petites-filles sont réalisées par dilution dans de l'éthanol 96% et de l'eau ultrapure (50/50) à des concentrations comprises entre 50 et 200 µg/mL.

ii. Migration des plastifiants

L'étude de migration des plastifiants est réalisée sur les disques fonctionnalisés (n=5) et PVC-NT (n = 10). La pesée de chaque disque est réalisée avant chaque test. Le simulant utilisé est un mélange d'eau et d'éthanol 96% (50/50), conservé à 40°C (température des incubateurs des nouveau-nés hospitalisés) pendant 24 heures et 72 heures, ce qui correspond aux temps maximum de perfusion intraveineuse des solutions médicamenteuses lipidiques et non lipidiques. Ces différents paramètres de migration sont en adéquation avec le Règlement n ° 10/2011 de la Commission concernant les matériaux et objets en matière plastique destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires (141).

TOTM

Chaque disque de PVC plastifié au TOTM est ensuite placé dans des tubes à centrifuger Eppendorf® (Eppendorf® LoBind microcentrifuge tube DNA, volume = 1,5 mL, Sigma Aldrich, St-Louis, France) contenant un mélange constitué de 500 µL d'EPPI et 500 µL d'éthanol à 96%. Les tubes Eppendorf® fermés sont ensuite placés à l'étuve à une température de 40°C, pendant 24 ou 72 heures, pour un dosage après 24 heures et 72 heures d'incubation. Le simulant d'EPPI et d'éthanol 96% est alors dosé à chaque temps (24 et 72 heures) par la méthode CLHP-DAD (204) précédemment décrite afin de déterminer la concentration du TOTM ayant migré.

DINCH

Le DINCH est décrit dans la littérature comme étant le plastifiant qui migre le plus après le DEHP (102,140). C'est pourquoi de plus grands volumes de simulant ont été utilisés afin de ne pas saturer la solution de migration. Des tests préliminaires (non présentés ici) ont permis de montrer que dans un volume final de 10 mL, la migration du DINCH n'était pas saturée au cours du temps. Ainsi 5 mL d'EPPI et 5 mL d'éthanol à 96% ont été mis en contact avec des disques de DINCH dans des flacons en verre fermés. Ces flacons ont ensuite été placés à l'étuve à une température de 40°C pendant 24 et 72 heures.

Les résultats de la migration et de l'extraction des plastifiants sont présentés en % (qui correspond à des g/100g de PVC) et sous la forme moyenne \pm écart-type.

3. Résultats et discussion

Les échantillons ont tous été préalablement traités par du plasma froid basse pression. En effet, des manipulations précédentes, dont les résultats ne sont pas présentés dans la thèse, ont montré que le revêtement par la PDA seule sans traitement plasma au préalable ne permettait pas de diminuer la sorption des PA, ni de réduire la migration des plastifiants. Ceci va dans le même sens que les études de Razavi *et al.* (220). Ils avaient également travaillé sur

un matériau hydrophobe, le poly(diméthylsiloxane) qu'ils avaient d'abord traité au plasma oxygéné puis revêtu de PDA, afin de favoriser la fixation du polymère sur le substrat.

Nous commençons la présentation des résultats par ceux issus des différentes caractérisations physico-chimiques pour les deux types de disques, ceux plastifiés au TOTM et ceux plastifiés au DINCH. Des caractérisations par ATG, DSC, angle de contact, infra-rouge, MEB et cytotoxicité ont été réalisées. Ces analyses ont été effectuées pour mettre en évidence les modifications de surface induites par les différents traitements.

a. Caractérisations physico-chimiques

i. Analyses thermogravimétriques

L'objectif de ces ATG est de vérifier qu'il n'y a pas d'altération du PVC et des plastifiants à la température à 140°C (température de recuit) et à 170°C (température de fabrication des feuilles et films). La figure 58 représente la perte en masse des granulés contenant le DINCH et ceux contenant le TOTM en fonction de la température. A 140°C (température du recuit), le PVC contenant le DINCH est stable (0% de perte), alors qu'une perte négligeable de 0,02% est observée pour le PVC plastifié au TOTM. A 170°C, l'ATG met en évidence également des pertes négligeables de 0,10% et 0,21% pour les granulés contenant 30% de DINCH et 35% de TOTM respectivement. Ces deux températures peuvent, par conséquent, être utilisées dans nos expériences.

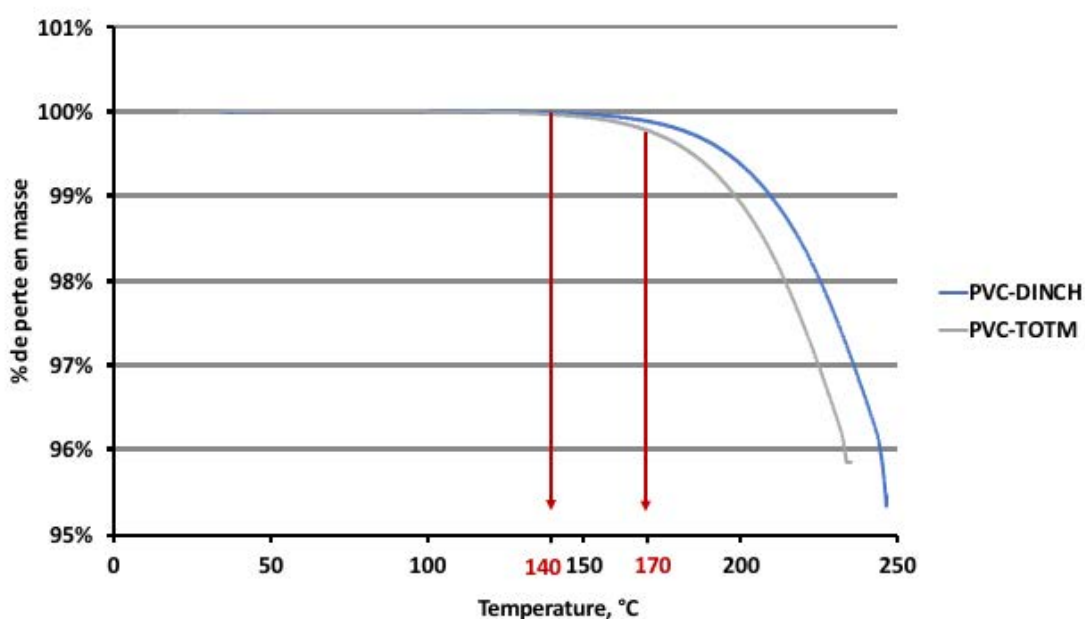


Figure 58 : Analyse thermogravimétrique des granulés de PVC-DINCH et PVC-TOTM (n =1).

ii. Calorimétrie différentielle à balayage

L'objectif de l'analyse par la DSC est de s'assurer que la fabrication des disques en utilisant une température de 170°C n'altère pas les propriétés du PVC plastifié. Les figures 59 et 60 illustrent les thermogrammes obtenus suite aux deux cycles réalisés pour le TOTM et le DINCH respectivement.

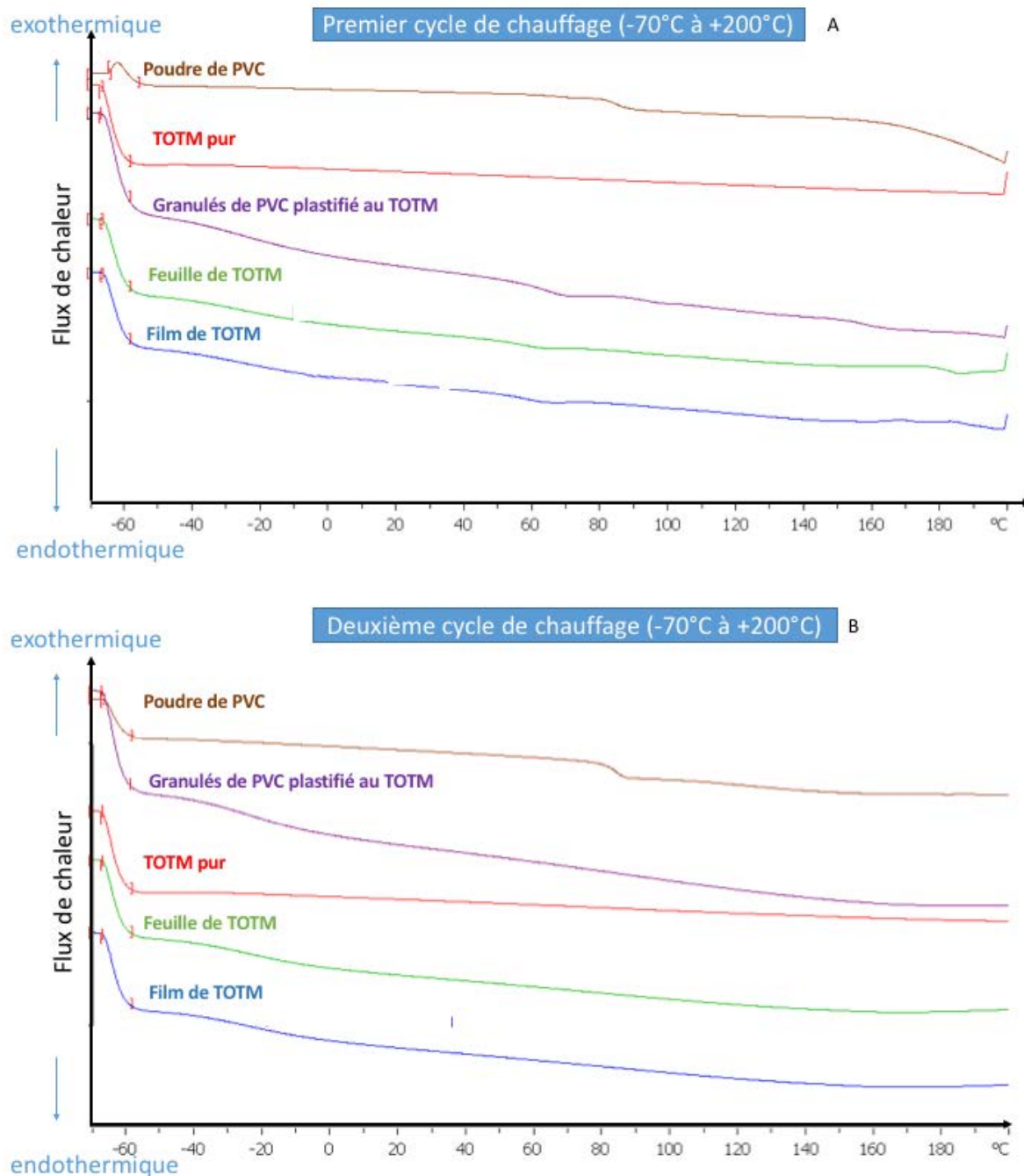


Figure 59 : Thermogrammes obtenus avec le TOTM, le premier cycle de chauffage (-70°C à +200°C) (A) et le deuxième cycle de chauffage (-70°C à +200°C) (B).

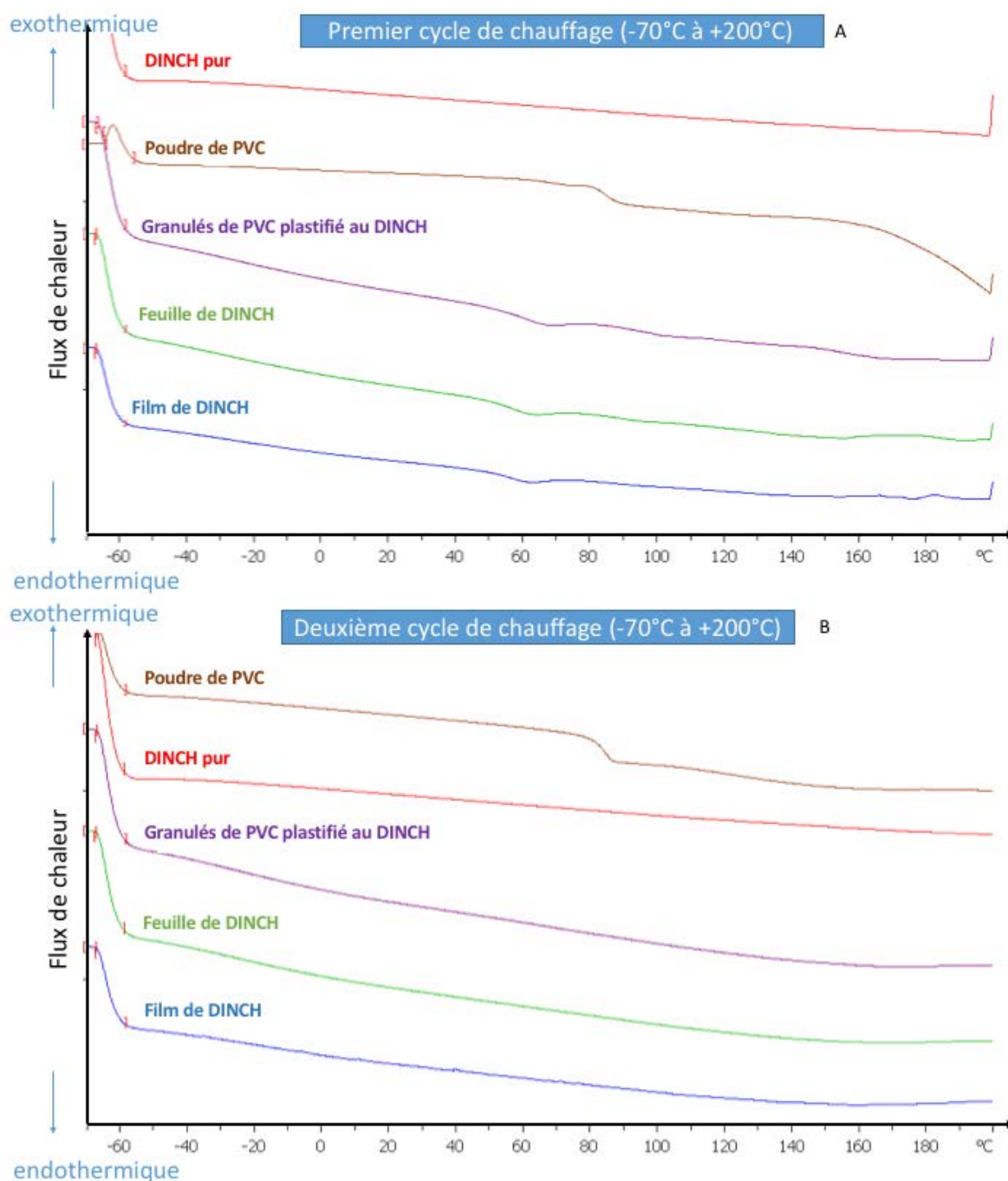


Figure 60 : Thermogrammes obtenus avec le DINCH, le premier cycle de chauffage (-70°C à +200°C) (A) et le deuxième cycle de chauffage (-70°C à +200°C) (B).

La poudre de PVC seule sans plastifiant montre une T_g à 80°C, conformément aux données retrouvées dans la littérature (15). En effet, Lopez *et al.* (221) et Yu *et al.* (11) ont également trouvé une T_g proche (81,4°C et 87°C) pour du PVC sans ajout de plastifiant par DSC.

Les thermogrammes des plastifiants purs (TOTM et DINCH) n'ont montré aucune transition thermique sur les plages de température étudiées.

Pour les échantillons de PVC plastifié au TOTM (granulé, feuille et film) et ceux plastifiés au DINCH (granulé, feuille et film), aucun phénomène n'est observé. Pourtant, l'ajout de plastifiants diminue la température de la T_g vers -40°C (15). Toutefois, ces échantillons contenant une grande quantité de plastifiants (selon les données du fournisseur : 35% m/m de TOTM et 30% m/m de DINCH), il est probable que la T_g soit encore plus basse que -70°C (température la plus basse étudiée dans nos expériences). Lopez *et al.* (221) n'ont également détecté aucun événement pour le PVC plastifié au DEHP, ce qui est conforme à nos résultats. Néanmoins, ils ont observé une deuxième transition dans les courbes de DSC avec un large pic endothermique dans l'intervalle entre 160 et 200°C qui pourrait être lié à la fusion des petites zones cristallines contenues dans le PVC. Toutefois, ce pic n'a pas été observé dans nos analyses. Sur nos échantillons, nous pouvons constater qu'à 60°C de très faibles cristaux contenus dans le PVC ont fusionné.

L'analyse par ATG et par DSC a donc permis de conforter les températures de recuit (140°C) et de fabrication des feuilles et les films (170°C).

iii. Angle de contact

Ces traitements de surface entraînent une modification de la surface du PVC et en particulier l'hydrophilie. La partie suivante aborde les valeurs des angles de contact obtenus avec les différentes fonctionnalisations, dans un premier temps pour le TOTM, puis pour le DINCH.

TOTM

Les résultats de l'angle de contact sont résumés dans la figure 61 et le tableau 36 (annexe 3). Les angles de contact sont mesurés à J0 (soit juste après la fonctionnalisation) et à J7 (soit 7 jours après la fonctionnalisation).

Le PVC plastifié au TOTM est hydrophobe puisque l'angle de contact à l'eau mesuré est de $110,2 \pm 5,8^\circ$ à J0 et de $114,0 \pm 4,5^\circ$ à J7.

Le traitement par le plasma froid basse pression d'argon permet d'améliorer la mouillabilité de la surface. En effet, le traitement par les conditions P1, P2 et P3 permet d'obtenir des angles de $71,5 \pm 5,1^\circ$, $73,2 \pm 2,0^\circ$ et $73,0 \pm 7,9^\circ$ respectivement. Il est décrit dans la littérature que la surface du substrat devient plus hydrophile après traitement par plasma froid. En effet,

le plasma provoque une déchloration, ainsi le ratio Cl/C diminue tandis que celui du O/C augmente. La génération de groupements oxygénés peut être due à des réactions post-radicaux des carbones du PVC avec l'oxygène dans l'air après le traitement par plasma. La génération de ces groupements oxygénés hydrophiles (hydroperoxydes, carbonyles, hydroxyles, carboxyles...) augmente donc l'hydrophilie de la surface (154,160).

L'ajout de la PDA sur les disques pré-traités au plasma permet de diminuer l'angle de contact : $65,0 \pm 3,3^\circ$ (P1+ PDA), $62,3 \pm 8,0^\circ$ (P2+ PDA) et $60,8 \pm 1,8^\circ$ (P3+PDA). Ces résultats sont explicables avec l'apport de fonctions amines contenues dans la PDA qui rendent la surface plus hydrophile. En effet, le revêtement de la PDA sur un disque de PVC-TOTM non préalablement traité au plasma ($58,1 \pm 2,6^\circ$) permet de diminuer l'angle de contact de moitié environ par rapport au PVC-NT.

Avec le recuit à 140°C , les angles de contact augmentent, conduisant à des revêtements plus hydrophobes ($73,8 \pm 3,2^\circ$; $89,5 \pm 1,5^\circ$ et $84,6 \pm 6,3^\circ$ pour P1+PDA+R ; P2+PDA+R et P3+PDA+R respectivement). En effet, le recuit provoque une réticulation de la PDA par la formation de dérivés indoles qui consomment les fonctions amines (218).

Les angles de contact des fonctionnalisations par P+PDA+P sont plus hydrophiles que le PVC-NT, ils sont respectivement de $66,0 \pm 3,4^\circ$; $69,0 \pm 6,0^\circ$ et $72,3 \pm 8,0^\circ$ pour P1+PDA+P1 ; P2+PDA+P2 et P3+PDA+P3. Ces angles de contact sont légèrement inférieurs à ceux du plasma seul puisque la surface recouverte de PDA est déjà plus hydrophile.

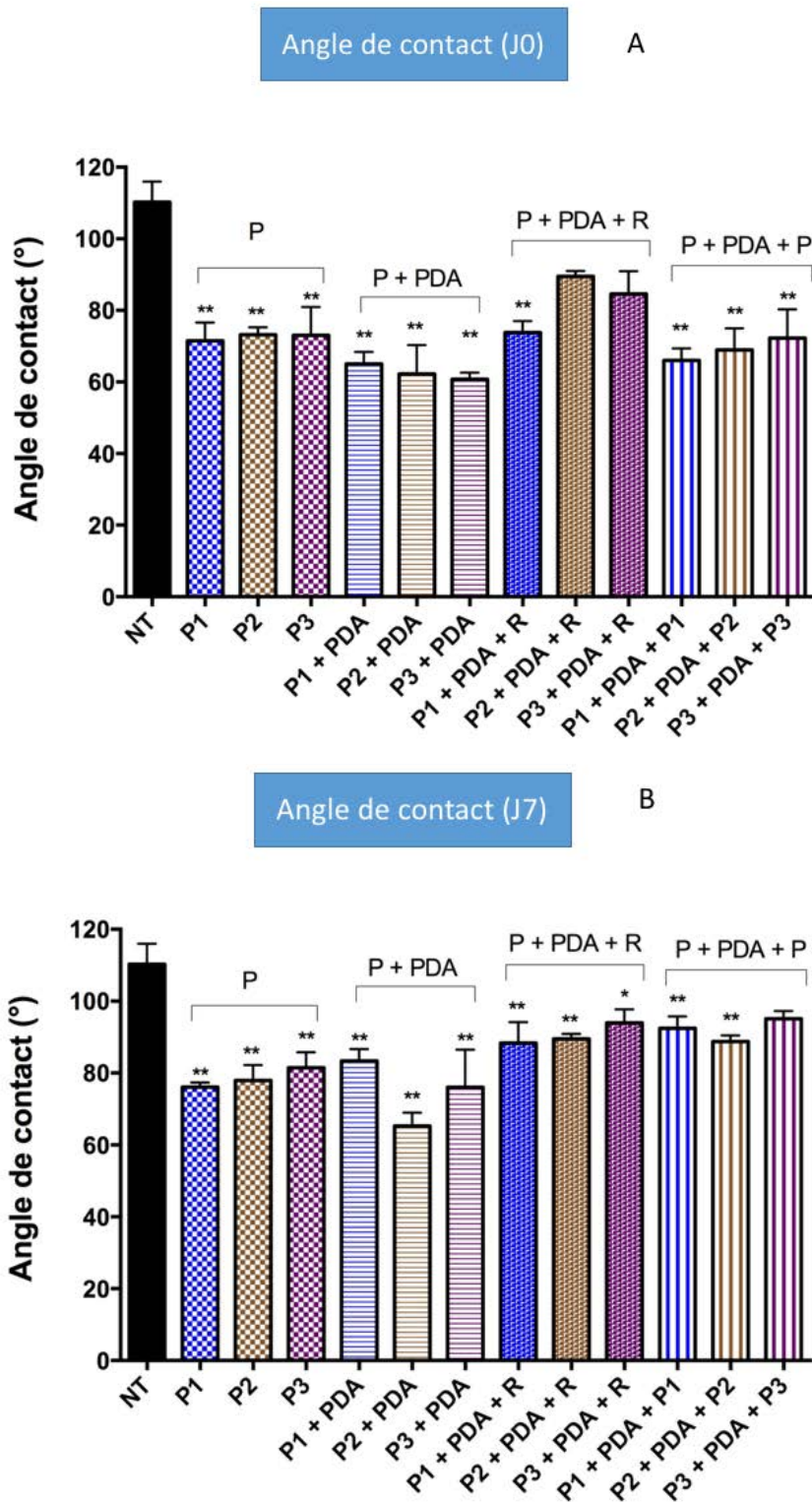


Figure 61 : Angles de contact des disques plastifiés au TOTM non traités et fonctionnalisés à J0 (A) et J7 (B), n = 9. ** p < 0,0001 ; * p = 0,0005.

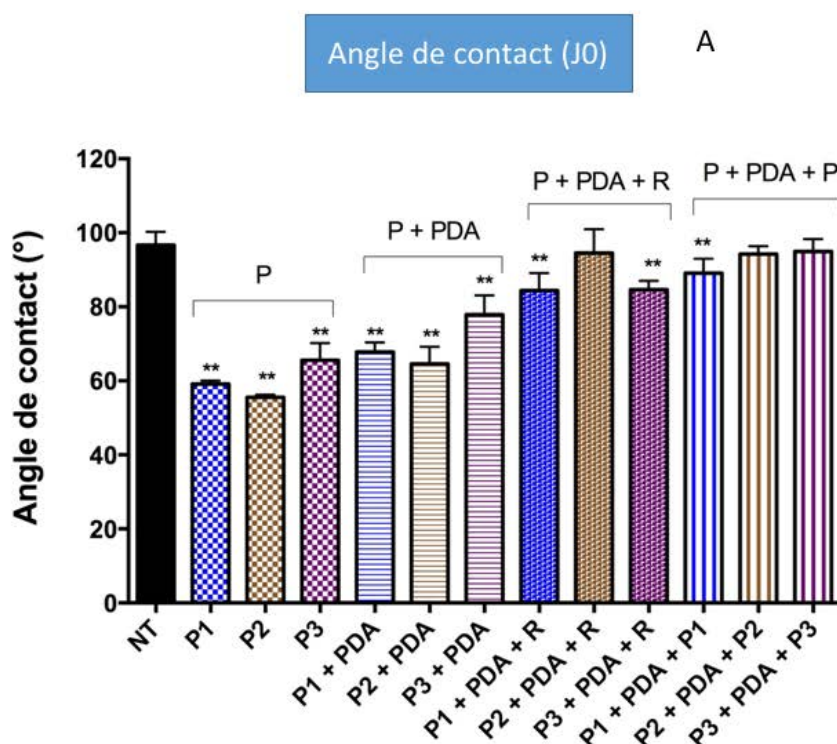
P : plasma froid, P1 = 180 secondes et 100 SCCM, P2 = 60 secondes et 850 SCCM, P3 = 60 secondes et 500 SCCM. PDA = polydopamine. R = recuit (140°C pendant 1 heure).

DINCH

L'angle de contact du PVC-DINCH NT est de $96,7 \pm 3,6^\circ$ (figure 62 et tableau 37 en annexe 3). Tout comme pour le TOTM, le traitement par plasma froid basse pression à l'argon permet d'augmenter l'hydrophilie de la surface : $59,1 \pm 0,9^\circ$; $55,6 \pm 0,7^\circ$ et $65,5 \pm 4,6^\circ$ pour P1, P2 et P3 respectivement.

L'ajout de la PDA sur les disques pré-traités par plasma diminue légèrement l'hydrophilie de la surface du polymère : $67,8 \pm 2,6^\circ$; $64,6 \pm 4,6^\circ$ et $77,9 \pm 5,2^\circ$ pour P1+PDA ; P2+PDA et P3+PDA respectivement, par l'apport des fonctions hydrophiles amines de la PDA.

Avec le post-traitement par le recuit et le plasma, la surface du polymère redevient hydrophobe et les valeurs sont proches de celle du PVC-NT. Pour le recuit, les angles de contact sont de $84,4 \pm 4,7^\circ$; $94,5 \pm 6,4^\circ$ et $84,7 \pm 2,3^\circ$ pour P1+PDA+R ; P2+PDA+R et P3+PDA+R respectivement. Quant au post-traitement par plasma, ils sont de $89,1 \pm 3,9^\circ$; $94,2 \pm 2,1^\circ$ et $94,9 \pm 3,3^\circ$ pour P1+PDA+P1 ; P2+PDA+P2 et P3+PDA+P3 respectivement.



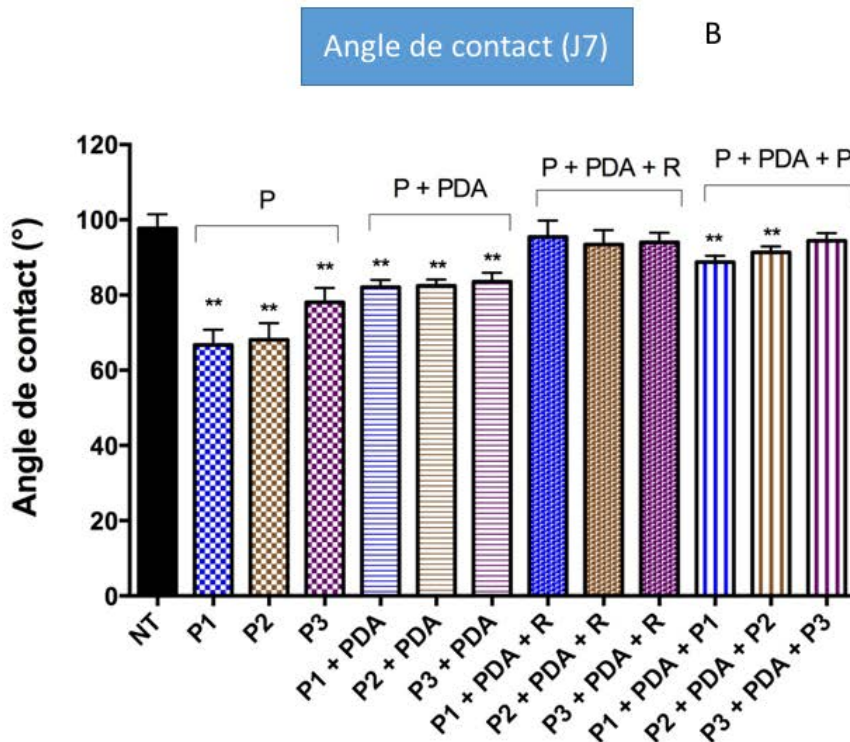


Figure 62 : Angles de contact des disques plastifiés au DINCH non traités et fonctionnalisés à J0 (A) et J7 (B), n = 9. ** p < 0,0001.

P : plasma froid, P1 = 180 secondes et 100 SCCM, P2 = 60 secondes et 850 SCCM, P3 = 60 secondes et 500 SCCM. PDA = polydopamine. R = traitement post-thermique (140°C pendant 1 heure).

De même que pour le TOTM, la surface du PVC fonctionnalisée devient plus hydrophobe à J7 par rapport à J0, sauf pour la fonctionnalisation par P+PDA+P qui présentent des angles de contact similaires.

Le PVC est un matériau hydrophobe, l'angle de contact mesuré sur de la poudre pure de PVC est de $81,6 \pm 2,7^\circ$ (222). Toutefois, la nature du plastifiant ajouté, ainsi que son pourcentage ont un impact sur la valeur de l'angle de contact. En effet, avec le PVC-TOTM l'angle de contact est de $110 \pm 5,8^\circ$, avec le PVC-DINCH de $96,7 \pm 3,6^\circ$ et avec le PVC-ATBC (30% m/m) de $81,6 \pm 2,9^\circ$. L'angle de contact est plus élevé lorsque le plastifiant est en concentration plus importante, puisqu'il est de $95,9 \pm 2,7^\circ$ lorsque l'ATBC est à 70% m/m d'après Zhang *et al.* (222). Bien que le TOTM et le DINCH aient respectivement un Log P de 5,94 et 10 ; les angles de contact retrouvés avec le TOTM sont supérieurs à ceux du DINCH car le pourcentage entre les deux plastifiants n'est pas le même (35% pour le TOTM et 30% pour le DINCH).

Les angles de contact des substrats revêtus seulement de PDA sont compris entre 50 et 60°, ce qui se rapproche de la valeur théorique du film de PDA pur (185). Nous retrouvons des valeurs similaires pour la PDA déposée sur nos échantillons sans traitement au plasma préalable : $58,1 \pm 2,6^\circ$ pour le PVC-TOTM et $62,4 \pm 1,8^\circ$ pour le PVC-DINCH.

Toutefois, l'angle de contact de la surface d'un polymère revêtu par de la PDA dépend également des propriétés du polymère (184), ce qui expliquerait pourquoi pour le PVC-DINCH fonctionnalisé par P3+PDA, l'angle de contact ($77,9 \pm 5,2^\circ$) est supérieur aux autres ($67,8 \pm 2,6^\circ$; $64,6 \pm 4,6^\circ$ pour P2+PDA et P3+PDA respectivement) car les modifications engendrées par le traitement plasma à la surface peuvent être différentes selon les conditions de traitement. D'autant plus que l'angle de contact est légèrement plus élevé avec P3 ($65,5 \pm 4,6^\circ$) qu'avec P1 ($59,1 \pm 1,0^\circ$) ou P2 ($55,6 \pm 0,7^\circ$).

Le traitement par plasma est instable au cours du temps car il se produit des réarrangements avec l'air qui est un milieu hydrophobe (154,223), l'hydrophilie de la surface est par conséquent modifiée, ce qui explique les différences d'angle de contact entre J0 et J7.

Concernant les autres fonctionnalisations avec la PDA, afin d'expliquer les différences d'angle de contact obtenus entre J0 et J7, nous avons déposé de la PDA sur une surface en verre. L'angle de contact évoluait également sur 7 jours : $42,4 \pm 2,6^\circ$ (J0) et $54,1 \pm 4,8^\circ$ (J7). De plus, lorsque la PDA est déposée seule sur un échantillon de PVC non préalablement traité par du plasma froid, l'hydrophilie de la surface diminue également : $58,1 \pm 2,6^\circ$ (J0) et $70,4 \pm 1,2^\circ$ (J7) pour le TOTM et $62,4 \pm 1,8^\circ$ (J0) et $72,6 \pm 3,4^\circ$ (J7) pour le DINCH. Ainsi, la PDA doit continuer à se polymériser sur la surface au cours du temps, bien que cette hypothèse ne soit pas montrée dans la littérature et que l'épaisseur de la couche de PDA soit maximale après 24 heures d'incubation avec la dopamine (182).

Afin d'étudier les modifications engendrées par ces traitements de surface, nous avons également réalisé des analyses par infra-rouge, MEB et une étude de la cytotoxicité.

iv. Analyses Infra-rouge

La spectroscopie infrarouge (FT-IR) permet d'identifier des composés ou de déterminer la composition de la surface d'un échantillon. Cette technique est utilisée afin d'évaluer les

modifications de la surface du PVC après les différentes fonctionnalisations. Elle doit permettre d'évaluer plus particulièrement les modifications de la surface induites par le traitement plasma, la fixation de la PDA à la surface des échantillons ainsi que les modifications induites par les post-traitements.

Pour ces analyses, une seule condition plasma, la condition P2, a été étudiée.

Le PVC présente plusieurs bandes d'absorption spécifiques à 1427 cm^{-1} (CH_2), $1350 - 1250\text{ cm}^{-1}$ (CH), 1099 cm^{-1} (C-C), 966 cm^{-1} (CH_2) et à 616 cm^{-1} (C-Cl) (224,225).

TOTM

L'analyse par infrarouge a été effectuée sur 1) le TOTM seul, 2) le PVC plastifié au TOTM non traité, 3) le PVC plastifié au TOTM traité au plasma (P2), 4) le PVC fonctionnalisé par P2+PDA, 5) le PVC fonctionnalisé par P2+PDA+R et 6) le PVC fonctionnalisé par P2+PDA+P2.

Le spectre FT-IR du TOTM seul est présenté sur la figure 63, on peut remarquer une bande d'absorbance des chaînes alkyles vers $3000 - 2800\text{ cm}^{-1}$ et une bande C=O à 1700 cm^{-1} .

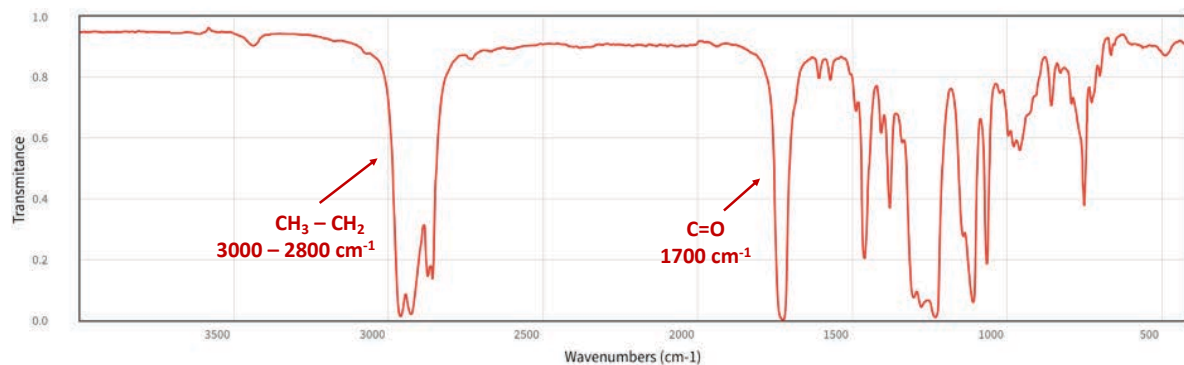


Figure 63 : Spectre infra-rouge du TOTM.

Sur le spectre FT-IR du PVC-TOTM NT (figure 64), on retrouve les deux bandes d'absorbance du TOTM précédemment citées ainsi que deux bandes caractéristiques du PVC: vers 950 cm^{-1} (CH_2) et vers 600 cm^{-1} (C-Cl).

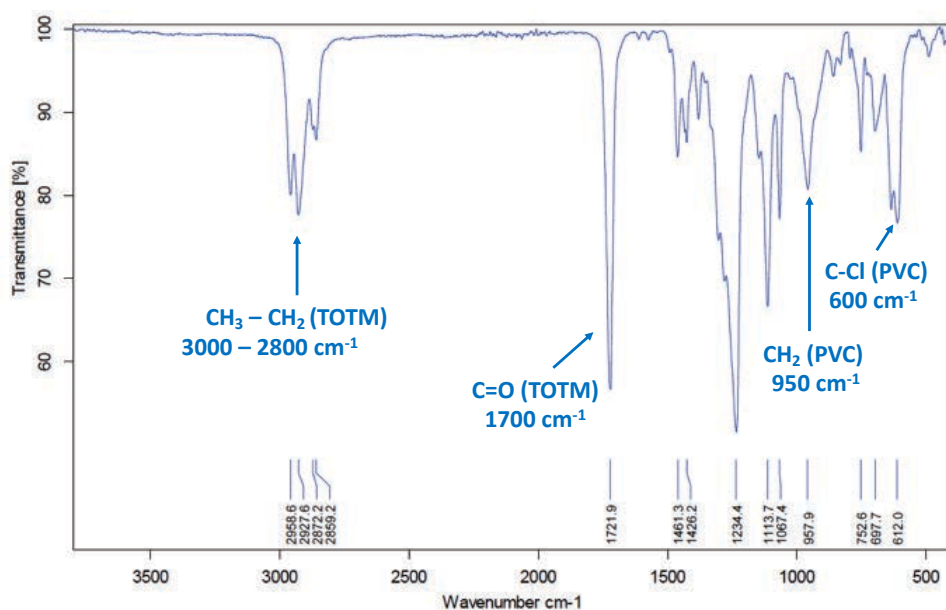


Figure 64 : Spectre infra-rouge du PVC plastifié au TOTM non traité.

Le traitement par du plasma seul (P2) ne modifie pas le spectre IR en comparaison avec le PVC plastifié au TOTM NT (figure 65), ce qui semble normal car le traitement plasma n'affecte que l'extrême surface du matériau, et il faudrait réaliser des analyses par spectrométrie photoélectronique (*X-ray photoelectron spectroscopy* – XPS) pour identifier précisément ces modifications.

L'ajout d'une couche de PDA sur les échantillons est observable en FT-IR par la présence d'une large bande observée à 3600 - 3000 cm⁻¹ et d'une seconde entre 1600 – 1500 cm⁻¹ qui sont respectivement caractéristiques des fonctions –OH et des liaisons C=C de la PDA.

Les spectres IR obtenus pour les échantillons ayant subi un post-traitement par du recuit et par le plasma froid ne sont pas différents par rapport à celui de l'échantillon P2+PDA .

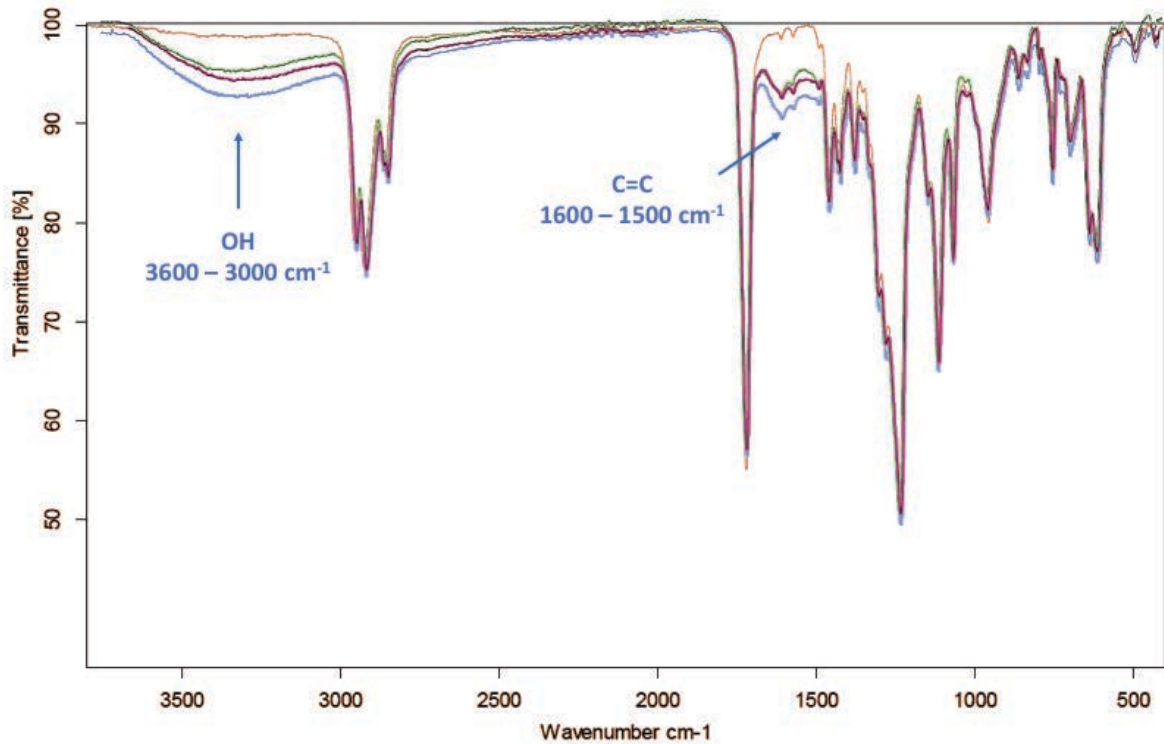


Figure 65 : Spectre infra-rouge du PVC traité par P2 (orange), P2+PDA (bleu), P2+PDA+R (vert), P2+PDA+P2 (rose).

DINCH

Le spectre IR du PVC plastifié au DINCH NT montre des bandes d'absorbance des groupements CH_3 et CH_2 vers 3000 cm^{-1} et une bande $\text{C}=\text{O}$ à 1700 cm^{-1} qui représentent des fonctions du DINCH (figure 66). Le spectre IR du PVC-DINCH traité au plasma n'est pas modifié par rapport à celui du NT (figure 67).

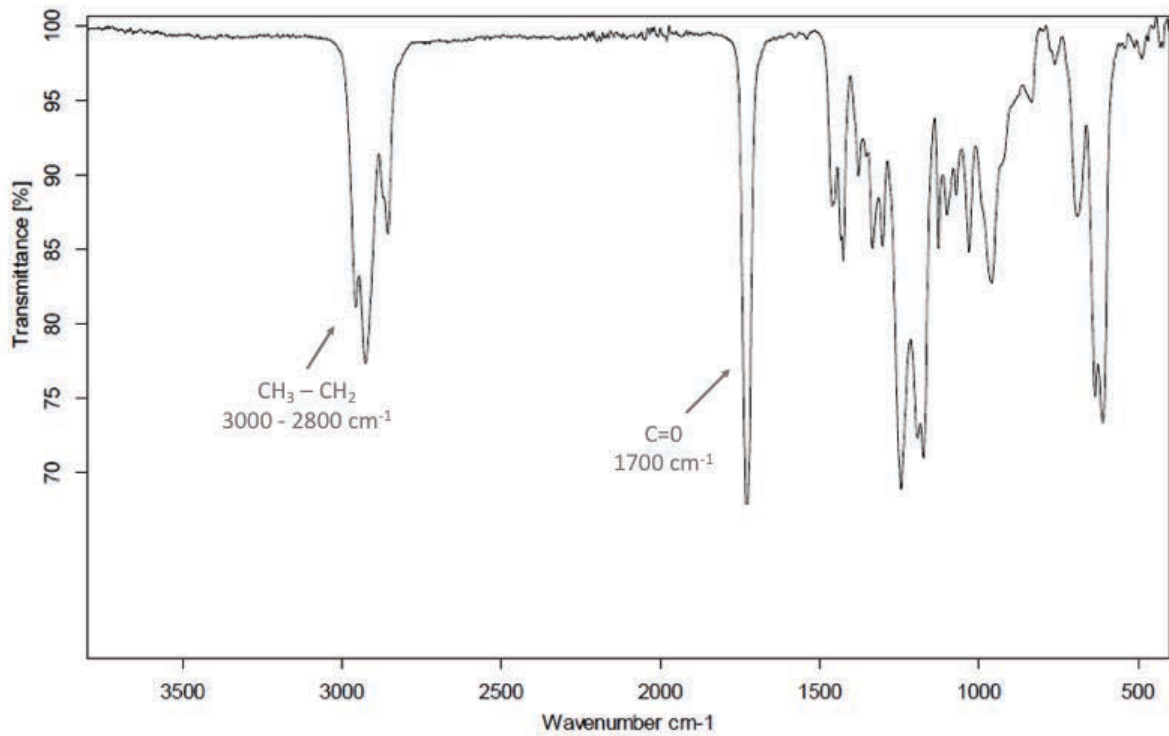


Figure 66 : Spectre infra-rouge du PVC plastifié au DINCH non traité.

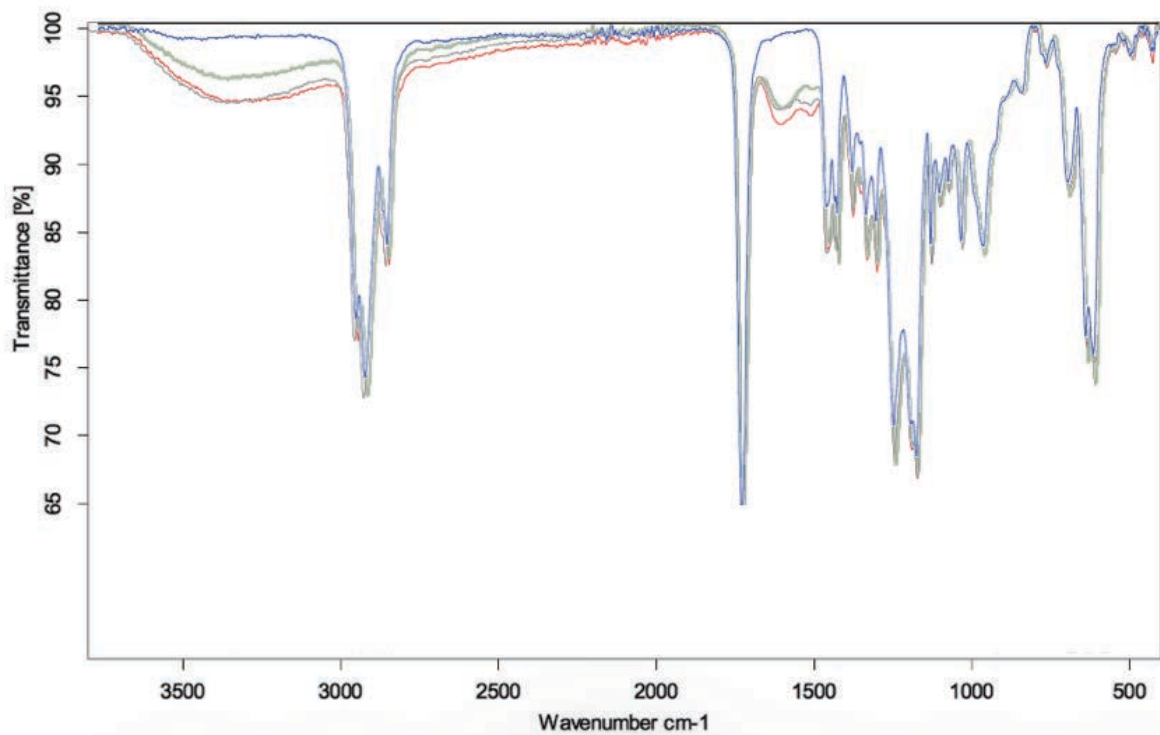


Figure 67 : Spectres infra-rouge des PVC plastifiés au DINCH traité par du plasma (bleu), revêtu d'une couche de polydopamine (P2+PDA, noir) et ayant un post- traitement par du recuit (P2+PDA+ R, vert) ou du plasma (P2+PDA+P2, rouge).

La couche de la PDA est observable par les groupes OH (bandes vers 3500 cm^{-1}) et par les groupes C=C (bande vers 1600 cm^{-1}) pour les trois échantillons revêtus de PDA (P2+PDA, P2+PDA+R et P2+PDA+P2) (figure 67). On retrouve les groupes CH_2 et CH_3 vers 3000 cm^{-1} , et les groupes C=O vers 1700 cm^{-1} du DINCH. En revanche, aucune différence n'est observable pour les spectres IR ayant eu un post-traitement.

Les données en FT-IR réalisées sur les échantillons ont permis de mettre en évidence la présence de la couche de PDA sur les échantillons grâce à l'identification des fonctions OH et du cycle aromatique présents dans la PDA. En revanche, cette technique n'a pas permis de mettre en évidence les modifications apportées par le traitement par plasma, ni entre les post-traitements par le recuit ou le plasma. Cette technique quantitative bien qu'analysant la surface des polymères n'est probablement pas adéquate pour montrer ces différences, une analyse par XPS permettrait de réaliser une analyse qualitative par la détermination de la composition élémentaire de la surface mais également de réaliser une analyse quantitative avec la mise en évidence des liaisons chimiques.

v. Microscopie électronique à balayage

Les disques de PVC fonctionnalisés ont été observés par MEB (figure 68). L'analyse par MEB permet d'étudier la surface des échantillons et de produire des images de très haute résolution de celle-ci. Dans notre cas, le MEB nous permet de visualiser le dépôt de PDA sur les échantillons de PVC-DINCH et PVC-TOTM préalablement traités au plasma (condition 2).

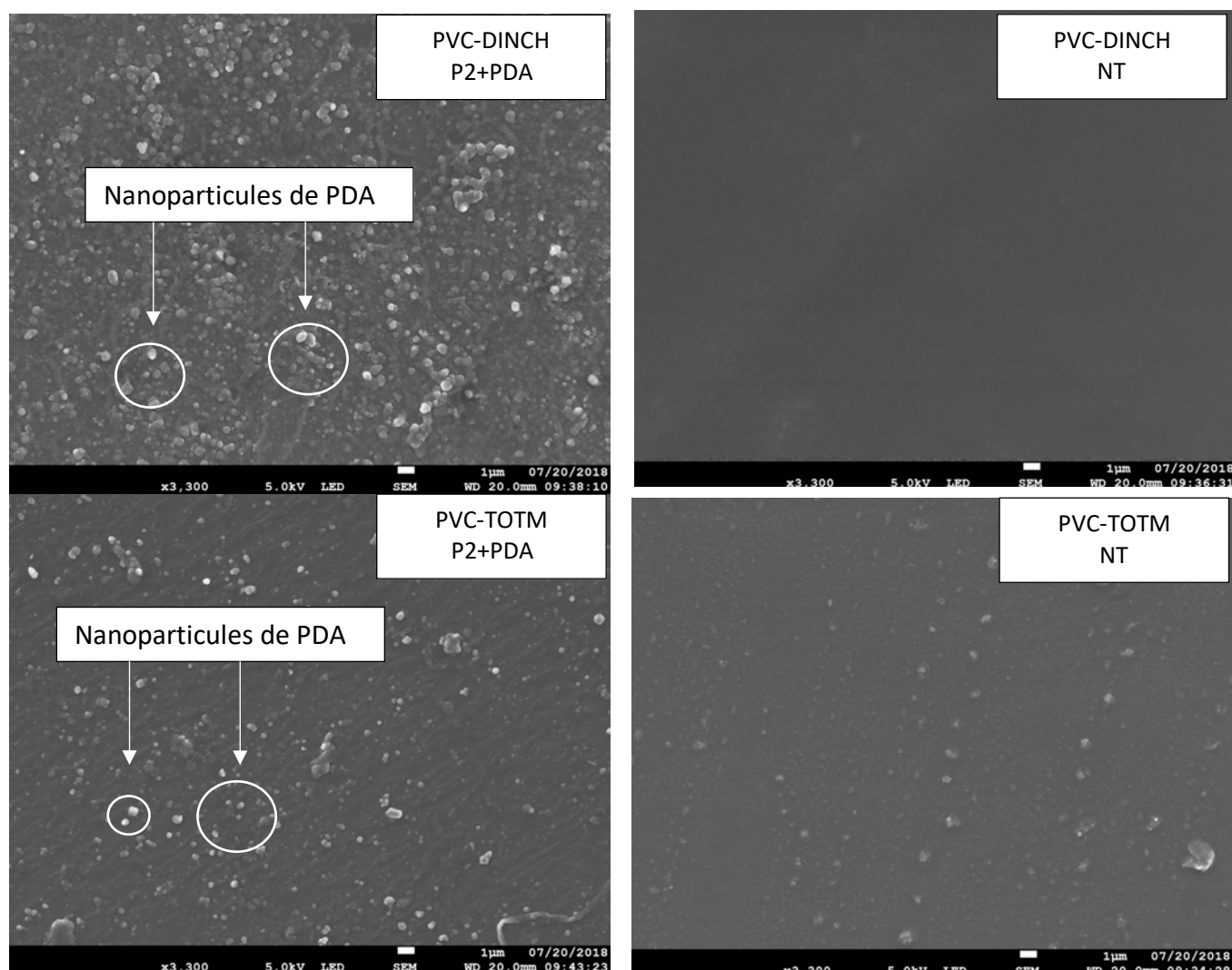


Figure 68 : Photos de microscopie électronique à balayage, grossissement $\times 3300$.

La PDA est visible à la surface des échantillons sous forme de petits agrégats comme décrit dans différentes études (184,187).

vi. Cytotoxicité

Afin d'évaluer la cytotoxicité de nos échantillons fonctionnalisés, nous avons réalisé un test de viabilité cellulaire sur des cellules MC3T3-E1. Pour chaque plastifiant, les tests sont réalisés sur 1) une tubulure de PVC plastifié commercialisée, 2) un disque de PVC plastifié, 3) un disque fonctionnalisé par P2+PDA, 4) un disque fonctionnalisé par P2+PDA+R et 5) un disque fonctionnalisé par P2+PDA+P2. La PDA est décrite dans la littérature comme n'étant pas cytotoxique (226).

Les tests de viabilité cellulaire montrent une très faible cytotoxicité (<70% selon la norme ISO 10993-5) pour les échantillons de PVC-TOTM fonctionnalisés par P2+PDA+R/P. Ces résultats sont plutôt surprenants et en contradiction avec la littérature qui décrit le DINCH comme

étant beaucoup plus toxique que le TOTM mais ils montrent surtout que le TOTM migre moins que le DINCH, comme nous le verrons par la suite (figure 69 et tableau 38 en annexe 3). Toutefois, les résultats de cytotoxicité de la littérature ont été réalisés sur du PVC plastifié au TOTM seul sans l'ajout de PDA et il est possible que dans le cas du TOTM, l'ajout du PDA accroît la cytotoxicité. De plus, ces résultats devront être confirmés par de nouvelles expériences puisque ce test a été réalisé sur un seul échantillon.

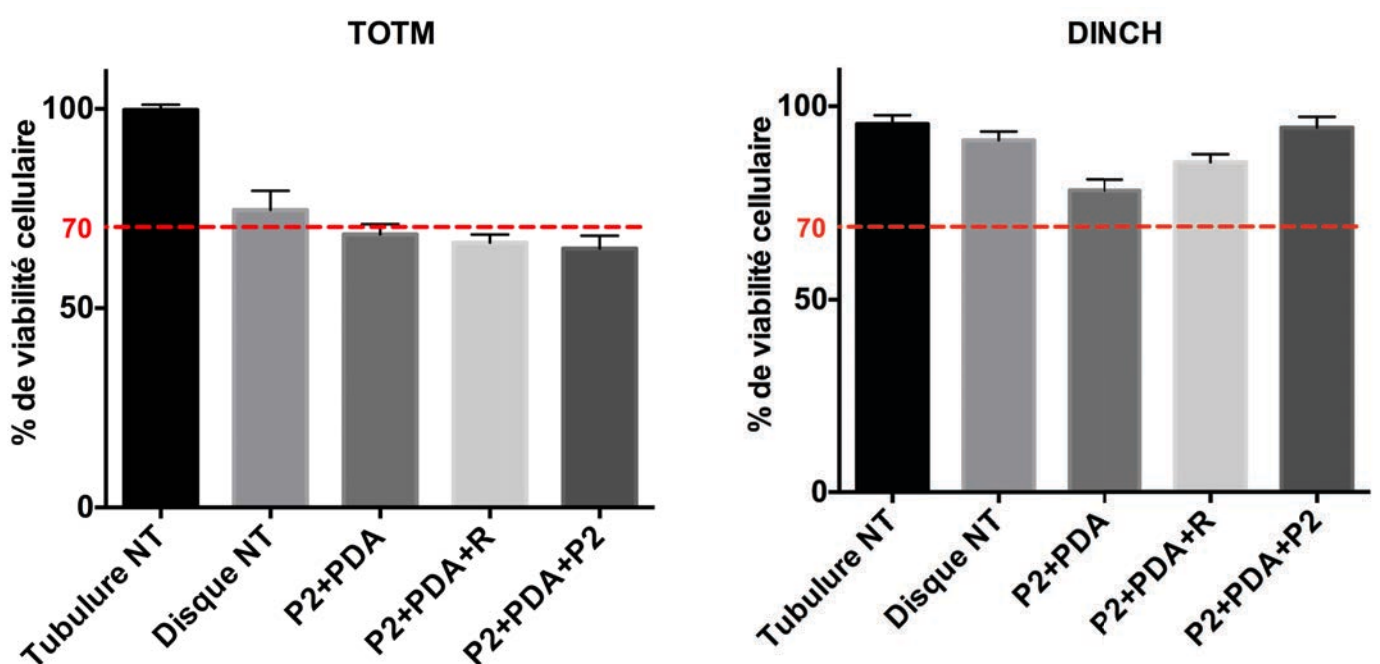


Figure 69 : Viabilité cellulaire des échantillons de PVC-TOTM et PVC-DINCH.

En conclusion, ces différentes caractérisations ont permis de mettre en évidence certaines modifications suite aux traitements. L'ATG et la DSC ont permis de valider l'utilisation des différentes températures (140°C – 170°C) dans cette étude. L'hydrophilie de la surface du PVC a pu être appréciée par des mesures de l'angle de contact et les résultats sont différents en fonction du traitement appliqué. La présence de la PDA a pu être mise en évidence par MEB et par FT-IR mais cette dernière technique ne nous a pas permis de faire la différence entre les deux post-traitements utilisés.

b. Sorption du diazépam

Rappelons que l'un des objectifs de cette thèse est de fonctionnaliser le PVC afin de limiter la sorption des PA. Comme cela a déjà été abordé, dans la partie générale, le DZP est un médicament très lipophile et fortement sujet à la sorption sur le PVC. C'est pour cela, que nous avons choisi ce PA qui sera dosé par spectrophotomètre-UV à 314 nm afin d'en déterminer sa concentration. Les solutions de DZP étant stables pendant 7 jours dans les conditions de conservation de nos échantillons - à savoir dans l'enceinte climatique (25°C – 60% d'humidité relative) - toute diminution de la concentration de DZP correspond à du DZP adsorbé sur notre échantillon de PVC. Il est ainsi possible de comparer les différentes fonctionnalisations vis-à-vis de la sorption de ce PA et de déterminer la fonctionnalisation pour laquelle la sorption est la plus basse, qui sera considérée comme étant la plus intéressante.

i. TOTM

Tous les résultats de la sorption du DZP avec le PVC plastifié au TOTM sont résumés dans les figures 70 et 71 ainsi que dans le tableau 39 en annexe 3.

Un test de Kruskal-Wallis est effectué pour comparer la sorption entre le PVC NT et les différents PVC fonctionnalisés (p . Bonferroni = 0,0006).

Le pourcentage de DZP adsorbé par le PVC-TOTM NT augmente en fonction du temps d'incubation et évolue de $6,3 \pm 0,9\%$ à $25,0 \pm 0,8\%$ en 7 jours.

Le traitement du PVC-TOTM par plasma froid basse pression d'argon entraîne une augmentation de la sorption pour le J1 (respectivement $9,7 \pm 0,7\%$; $10,8 \pm 0,4\%$ et $11,2 \pm 0,1\%$ pour les conditions 1,2 et 3) supérieure à celle observée pour le PVC-TOTM NT. Dès J2 cependant, les sorptions observées pour le PVC NT et traité par plasma seul ne sont statistiquement pas différentes ($p = 0,193$; $p = 0,062$ et $p = 0,417$ pour P1 ; P2 et P3 respectivement).

La fonctionnalisation plasma suivie du dépôt de PDA (P+PDA) permet de réduire significativement la sorption du DZP tout au long de l'étude : par exemple, la sorption au J7 est égale à $18,6 \pm 4,0\%$; $13,4 \pm 1,1\%$; $14,1 \pm 1,6\%$ pour P1+PDA ; P2+PDA et P3 + PDA respectivement. La sorption est plus élevée avec P1+PDA et le test statistique met en évidence

une différence significative entre P1+PDA et les fonctionnalisations par P2+PDA et P3+PDA ($p < 0,0001$).

Le recuit à 140°C pendant 1 heure ($3,9 \pm 0,9\%$; $3,6 \pm 0,8\%$ et $4,1 \pm 0,6\%$ pour P1+PDA+R ; P2+PDA+R et P3+PDA+R respectivement) ou le post-traitement par plasma froid basse pression d'argon ($3,6 \pm 0,3\%$; $3,6 \pm 0,4\%$ et $4,1 \pm 0,5\%$ pour P1+PDA+P1 ; P2+PDA+P2 et P3+PDA+P3 respectivement) permettent de réduire significativement la sorption du DZP au J1. Pour les jours suivants, les pourcentages de DZP adsorbé sur les disques P+PDA+R sont légèrement supérieurs aux traitements par P2/3+PDA et P+PDA+P. Par exemple, au J7, les pourcentages de DZP adsorbés pour P1+PDA+R ; P2+PDA+R et P3+PDA+R sont de $15,9 \pm 0,8\%$; $16,2 \pm 1,1\%$ et $16,2 \pm 1,0\%$ respectivement.

La figure 71 représente l'évolution de la sorption du DZP sur les 7 jours de l'étude avec les disques fonctionnalisés et NT. Les traitements qui correspondent aux courbes ayant le moins de sorption sur les 7 jours sont : P2+PDA ; P3+PDA et les trois traitements avec le post traitement par plasma et le recuit.

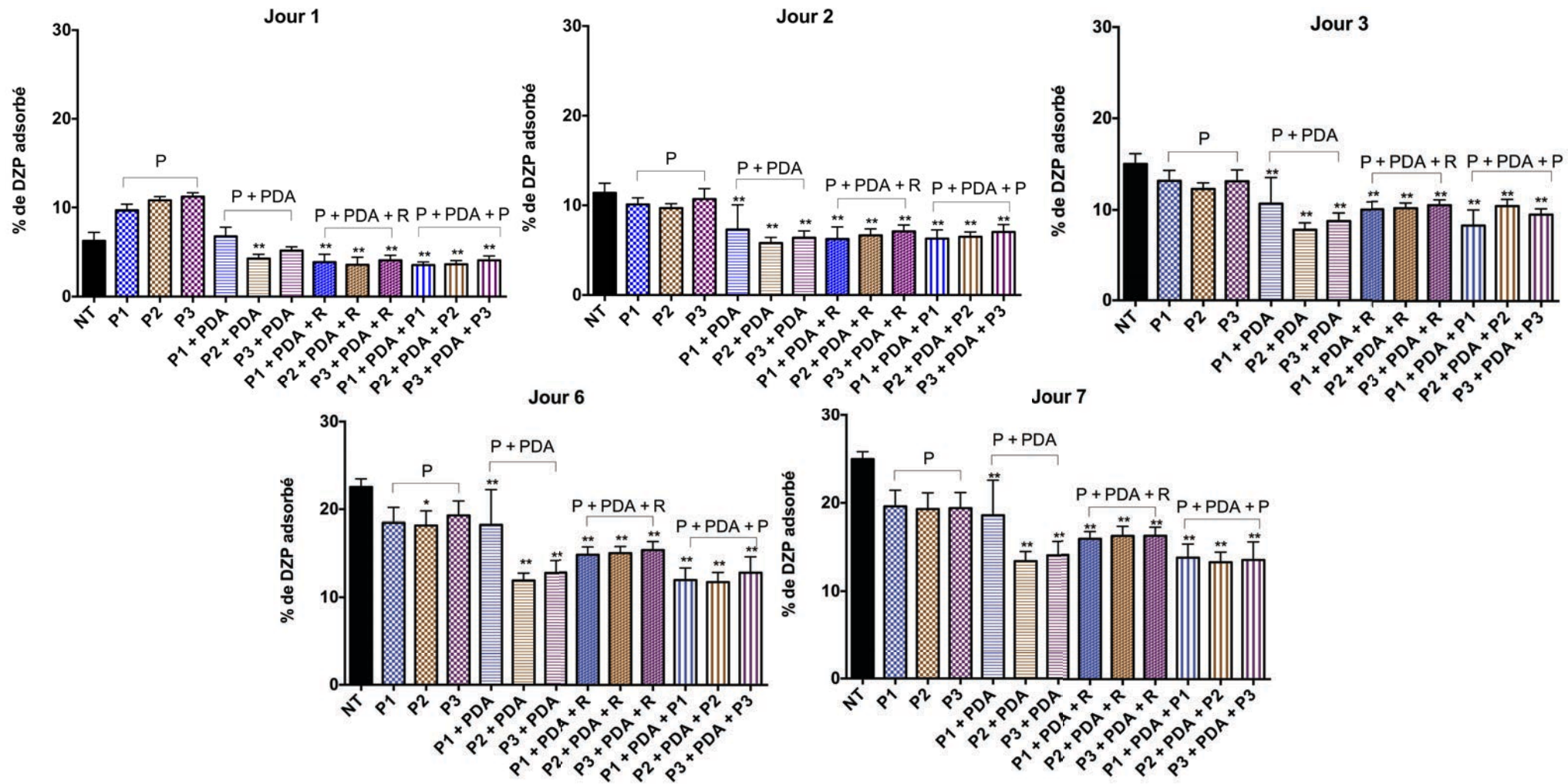


Figure 70 : Pourcentage de diazépam adsorbé sur les films de PVC plastifiés au TOTM et fonctionnalisés et non traités à J1, J2, J3, J6 et J7 (n = 10). ** p < 0,0001 ; * p = 0,0005. P : plasma froid, P1 = 180 secondes et 100 SCCM, P2 = 60 secondes et 850 SCCM, P3 = 60 secondes et 500 SCCM. PDA = polydopamine. R = recuit (140°C pendant 1 heure)

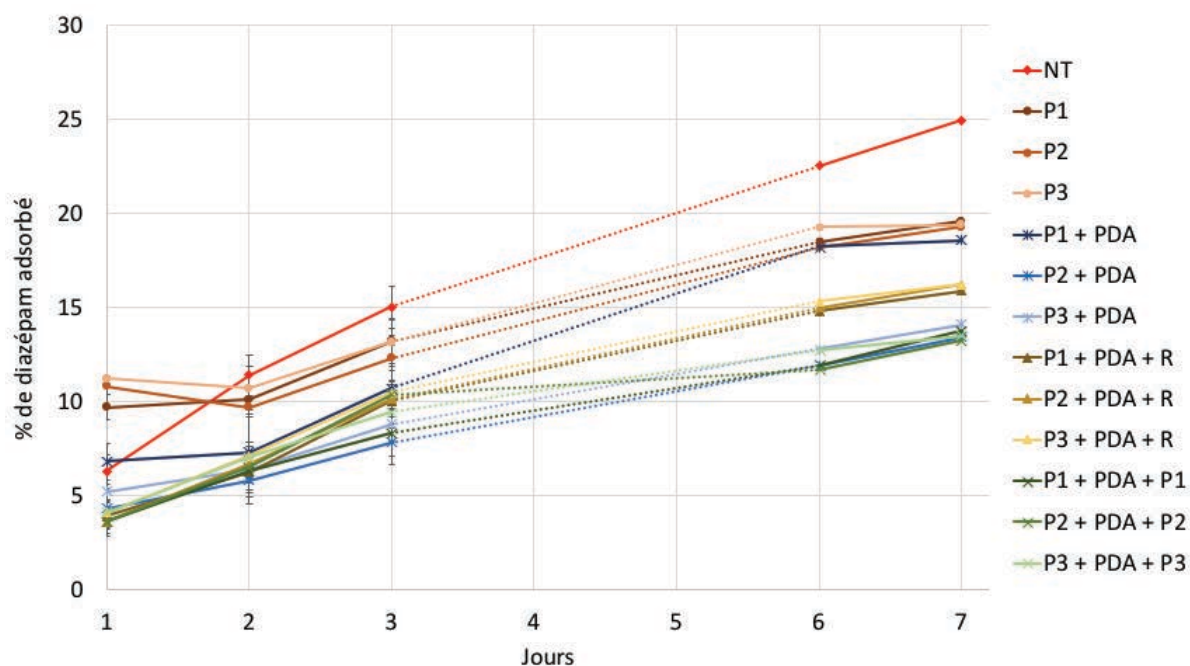


Figure 71: Évolution de la sorption du diazépam adsorbé sur le PVC plastifié au TOTM au cours de l'étude, n = 10. P : plasma froid, P1 = 180 secondes et 100 SCCM, P2 = 60 secondes et 850 SCCM, P3 = 60 secondes et 500 SCCM. PDA = polydopamine. R = recuit (140°C pendant 1 heure).

Le tableau 27 représente l'écart relatif de la sorption entre le disque de PVC NT et celui fonctionnalisé. Nous pouvons constater que la fonctionnalisation par P+PDA+P permet de réduire d'environ 40% la sorption du DZP sur le PVC, de même pour P+PDA qui permet de réaliser une étape de traitement en moins.

Tableau 27 : Écart-relatif (%) entre les sorptions avec le PVC-TOTM fonctionnalisé et NT (n=10).

Jour	1	2	3	6	7
P1	57%	-11%	-12%	-18%	-22%
P2	75%	-14%	-18%	-19%	-23%
P3	83%	-5%	-13%	-14%	-22%
P1 + PDA	10%	-36%	-29%	-19%	-26%
P2 + PDA	-31%	-49%	-48%	-47%	-46%
P3 + PDA	-16%	-44%	-42%	-43%	-44%
P1 + PDA + R	-36%	-45%	-33%	-34%	-36%
P2 + PDA + R	-43%	-41%	-33%	-33%	-35%
P3 + PDA + R	-34%	-37%	-30%	-32%	-35%
P1 + PDA + P1	-42%	-44%	-45%	-47%	-45%
P2 + PDA + P2	-41%	-49%	-31%	-53%	-47%
P3 + PDA + P3	-34%	-38%	-37%	-43%	-46%

P : plasma froid, P1 = 180 secondes et 100 SCCM, P2 = 60 secondes et 850 SCCM, P3 = 60 secondes et 500 SCCM. PDA = polydopamine. R = recuit (140°C pendant 1 heure).

Nous avons comparé les écarts-relatifs à J1 et au J3 (durée maximale de l'utilisation des tubulures en service de soins) des fonctionnalisations ayant un écart-relatif les plus élevés par un test de Kruskal-Wallis (soit P2/3+PDA, P+PDA+R et P+PDA+P). A J1 et à J3, ce test n'a pas montré de différence significative entre ces différentes fonctionnalisations.

Ainsi, cette étude de sorption sur les disques plastifiés au TOTM a permis de révéler que les fonctionnalisations par P+PDA+R, P+PDA+P, P2+PDA ou P3+PDA sont les plus efficaces pour réduire l'interaction avec le DZP.

ii. DINCH

Les figures 72 et 73 ainsi que le tableau 40 en annexe 3 représentent le pourcentage de DZP adsorbé sur le PVC-DINCH. A J1, le pourcentage de DZP adsorbé sur le PVC est de $6,2 \pm 0,3\%$ et augmente progressivement pour atteindre $23,7 \pm 1,8\%$ à la fin de l'étude (J7). Un test de Kruskal-Wallis est effectué pour comparer la sorption entre le PVC NT et les différents PVC fonctionnalisés (p . Bonferroni = 0,0006). Quel que soit le jour de l'étude, deux fonctionnalisations permettent de réduire significativement ($p < 0,0001$) la sorption du DZP tout au long de l'étude :

- Plasma + PDA + recuit (140°C pendant 1 heure) (P+PDA+R)
- Plasma + PDA + post-traitement plasma (P+PDA+P)

Aucune différence significative n'est observée entre les différentes conditions de traitement par plasma (seul) par rapport au témoin NT, sauf pour P3 le premier jour ($p < 0,0001$).

La fonctionnalisation P+PDA+R semble atteindre un plateau à J7. L'étude de la sorption pour cette fonctionnalisation a été poursuivie par un dosage en spectrophotométrie à J10 et J15.

Les résultats de la sorption sont les suivants :

- Au J10 : $22,3 \pm 0,8\%$, $21,3 \pm 0,2\%$ et $22,7 \pm 1,4\%$ pour les conditions P1+PDA+R, P2+PDA+R et P3+PDA+R respectivement,
- Au J15 : $26,1 \pm 2,0\%$, $26,3 \pm 1,1\%$, $26,8 \pm 0,9\%$ pour les conditions P1+PDA+R, P2+PDA+R et P3+PDA+R respectivement.

Nous pouvons en conclure que le DZP continue de s'adsorber sur ces disques traités par P+PDA+R. Il n'a pas été mis en évidence de saturation de la sorption du DZP sur les disques de PVC plastifiés au DINCH fonctionnalisés au cours des 15 jours de l'étude. En revanche, nous pouvons constater que le pourcentage de DZP adsorbé est plus important au début de l'étude

qu'à la fin. Cela peut être dû à la surface du disque de PVC qui est complètement recouverte de DZP ou bien à une efficacité de la barrière pour limiter l'absorption de la molécule. Afin de valider cette hypothèse, il aurait fallu utiliser des disques ayant une surface plus grande.

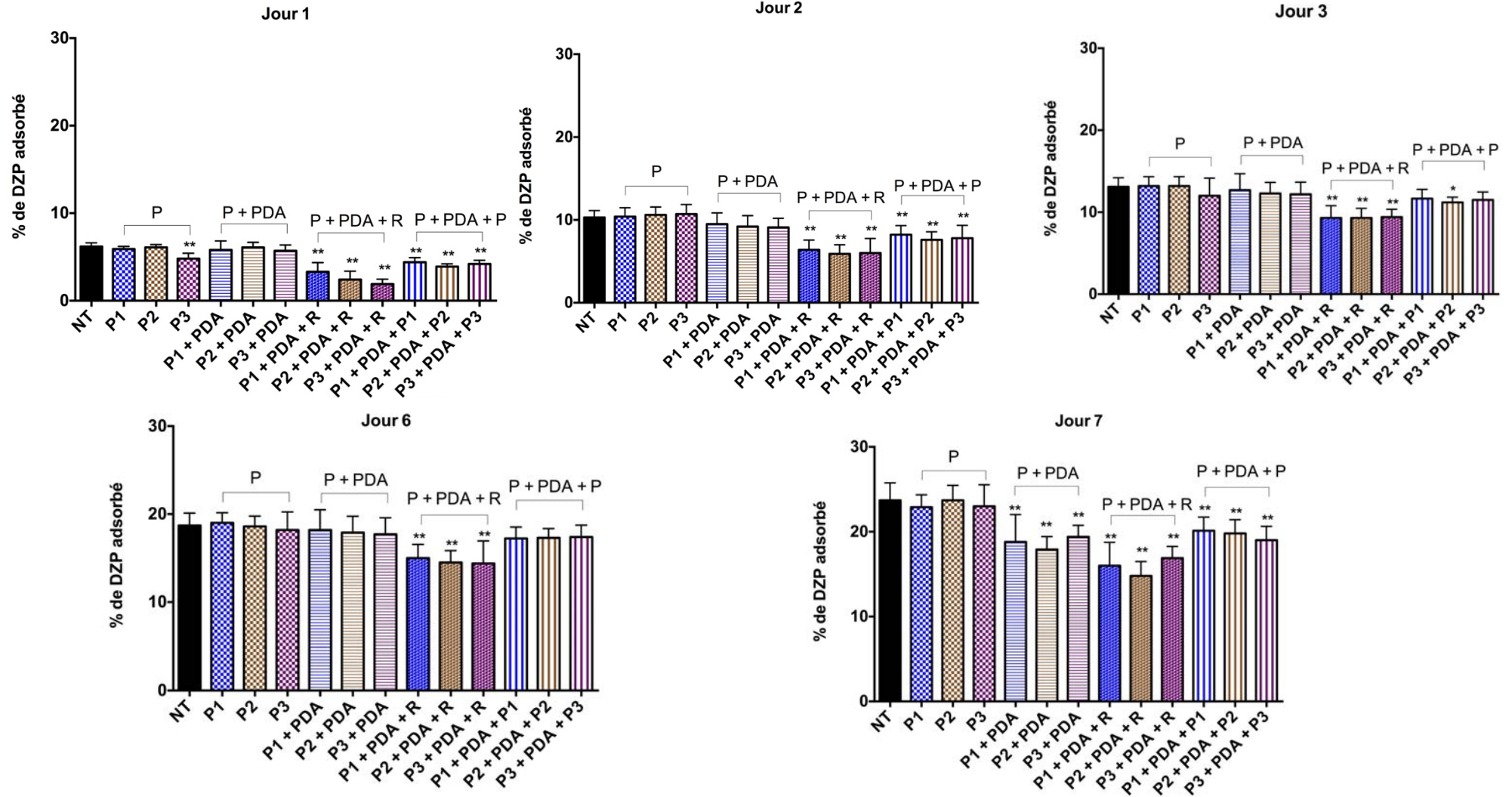


Figure 72 : Pourcentage de diazépam adsorbé sur les PVC plastifiés au DINCH fonctionnalisés et non traités à J1, J2, J3, J6 et J7, n = 10. ** p < 0,0001 ; * p = 0,0001. P : plasma froid, P1 = 180 secondes et 100 SCCM, P2 = 60 secondes et 850 SCCM, P3 = 60 secondes et 500 SCCM. PDA = polydopamine. R = recuit (140°C pendant 1 heure).

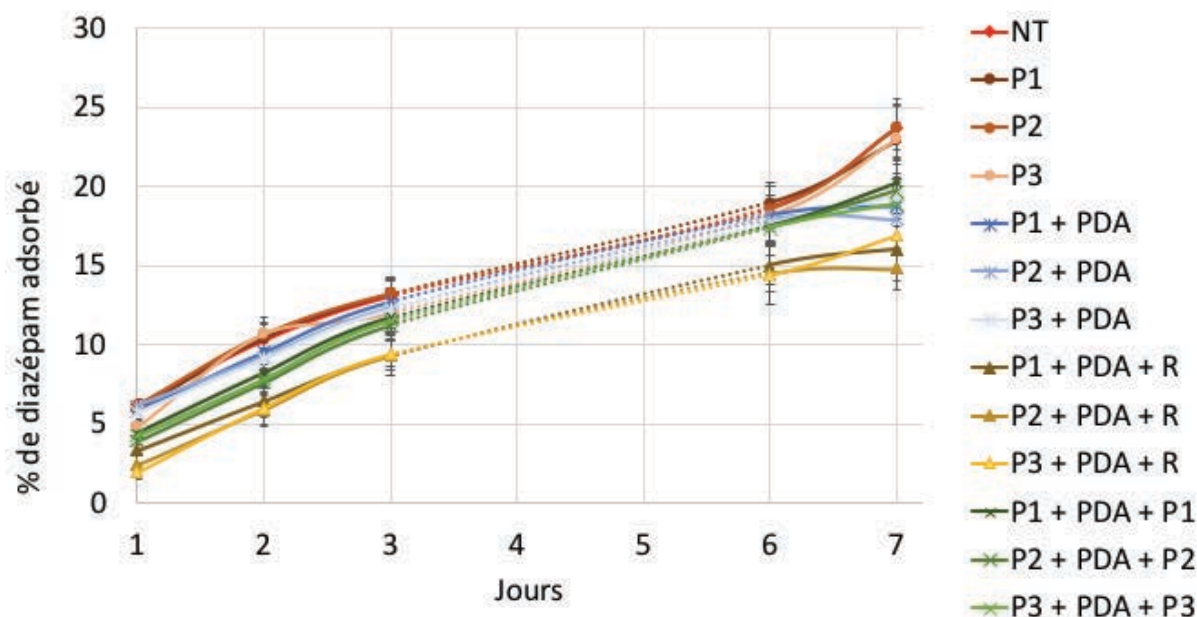


Figure 73 : Évolution de la sorption du diazépam adsorbé sur le PVC-DINCH (n=10).

Le tableau 28 qui exprime le pourcentage de diminution du DZP adsorbé sur ces disques fonctionnalisés par rapport au PVC NT, permet de conclure que le pourcentage de sorption semble plus faible pour la fonctionnalisation P+PDA+R, avec une sorption particulièrement faible au J1. Toutefois, le test de Kruskal-Wallis n’a pas montré de différence significative entre les trois traitements P1/P2/P3+PDA+R aux différents jours de l’étude.

Tableau 28 : Écart-relatif (%) entre les sorptions avec le PVC-DINCH fonctionnalisés et NT (n=10).

Jour	1	2	3	6	7
P1	-5%	1%	2%	2%	-2%
P2	-1%	3%	2%	0%	1%
P3	-22%	4%	-8%	-2%	-2%
P1 + PDA	-6%	-8%	-3%	-2%	-21%
P2 + PDA	-1%	-11%	-5%	-4%	-24%
P3 + PDA	-8%	-12%	-6%	-5%	-18%
P1 + PDA + R	-47%	-38%	-28%	-19%	-32%
P2 + PDA + R	-61%	-43%	-29%	-22%	-37%
P3 + PDA + R	-69%	-42%	-28%	-23%	-28%
P1 + PDA + P1	-29%	-22%	-12%	-7%	-14%
P2 + PDA + P2	-37%	-27%	-14%	-7%	-16%
P3 + PDA + P3	-32%	-24%	-12%	-6%	-19%

Le traitement par du plasma seul, pour les deux plastifiants étudiés entraîne une sorption du DZP similaire à celle du NT. Toutefois, pour le TOTM, entre le PVC NT et la condition P2 seule, au J6, le test statistique a mis en évidence une différence significative mais la probabilité ($p = 0,0005$) est proche du p . de Bonferroni ($p = 0,0006$). Concernant le DINCH, au J1, une différence significative a été mise en évidence entre le PVC NT et le PVC traité avec P3 mais cette différence n'est pas retrouvée après le J1, au cours de l'étude.

Al Salloum *et al.* (97) ont également étudié la sorption du DZP avec plusieurs plastifiants, tels que le TOTM, le DEHT, le DINCH et le DEHP. Pour ces auteurs, plus la concentration en plastifiant est élevée dans la matrice de PVC, plus le DZP est adsorbé. Comme déjà abordé précédemment, les différents plastifiants ont des comportements similaires vis-à-vis de la sorption du DZP, mais celle-ci semble plus importante avec le PVC plastifié au DINCH. Treleano *et al.* (84) ont également observé qu'avec le DINCH, les sorptions de la nitroglycérine et du DZP étaient significativement plus élevées.

Nos résultats sur la sorption obtenus sont similaires au J1 et au J7 avec les deux plastifiants étudiés (test de Mann-Whitney, $p=0,05$), ce qui est en contradiction avec les études précédentes. En effet, les études précédentes ont montré que les PA s'adsorbaient moins sur le PVC-TOTM que sur le PVC-DINCH. Toutefois, le pourcentage de plastifiant contenu dans le PVC n'était pas le même. En effet, les disques contenaient 35% m/m de TOTM alors que ceux en DINCH en contenaient 30%. Or, nous savons que la sorption est d'autant plus importante que la concentration en plastifiant est élevée (84). Ainsi, cette sorption similaire entre le TOTM et le DINCH peut être due à une concentration en DINCH inférieure à celle du TOTM.

Bien qu'en condition clinique les DMs de perfusion ne soient jamais utilisés pendant plus de 96 heures dans certaines conditions, notre étude de sorption a duré 7 jours. En effet, dans des conditions d'asepsie et selon les protocoles validés dans les services hospitaliers, la ligne de perfusion peut rester en place 72 heures (3 jours) ou 96 heures (4 jours). Le traitement par plasma d'argon permet la réticulation de la surface du PVC par l'ablation de plusieurs atomes de chlore et des réarrangements de chaînes. Mais des réarrangements peuvent également avoir lieu après le traitement par plasma selon le milieu dans lequel se trouve l'échantillon. Ainsi, nous avons réalisé l'étude sur plusieurs jours, afin de savoir si le traitement par plasma pouvait réduire cette sorption. De plus, le DZP est adsorbé mais également absorbé sur le PVC (109). Cela signifie que si le DZP est retenu à la surface des couches du polymère, il s'agit alors

de l'adsorption. Mais il peut également traverser les couches du polymère, il s'agit dans ce cas-là du phénomène d'absorption. Notre étude a été conduite sur plusieurs jours afin de savoir si les fonctionnalisations étudiées étaient efficaces sur les deux types de phénomènes précédemment décrits.

Les plastifiants qui jouent un rôle sur la sorption des PA et de par leurs différences chimiques et structurales ont des mécanismes différents sur ce phénomène physico-chimique. Les fonctionnalisations des disques plastifiés en TOTM les plus efficaces pour réduire la sorption sont le P+PDA+P et P2 (ou P3)+PDA. Concernant, le DINCH, le recuit semble être le traitement le plus efficace pour réduire la sorption ; ce traitement permettant de réticuler la PDA crée en effet une barrière efficace contre la sorption du DZP.

Si nous confrontons ces valeurs à celles obtenues par les mesures des angles de contact, on peut noter que pour le DINCH, les angles de contact après recuit sont de $84,4 \pm 4,7^\circ$ (P1+PDA+R), $94,5 \pm 6,4^\circ$ (P2+PDA+R) et $84,7 \pm 2,3^\circ$ (P3+PDA+R). Ce sont les angles de contact les plus élevés témoignant des fonctionnalisations rendant le PVC le plus hydrophobe. Toutefois, il s'agit de la fonctionnalisation permettant de réduire d'environ 30% la sorption du DZP par rapport au PVC-NT. Ainsi, dans le cas du DINCH, l'augmentation de l'hydrophilie de la surface ne permet pas de réduire la sorption du DZP.

Concernant le TOTM, les angles de contact sont de $66,0 \pm 3,4^\circ$; $69,0 \pm 6,0^\circ$ et $72,3 \pm 8,0^\circ$ pour P1+PDA+P1 ; P2+PDA+P2 et P3+PDA+P3 respectivement. Pour le traitement par P2+PDA et P3+PDA, les angles de contact sont de $62,3 \pm 8,0^\circ$ et $60,8 \pm 1,8^\circ$ respectivement.

Ces valeurs sont plus faibles en comparaison aux autres fonctionnalisations. Toutefois, au vu des écarts-types retrouvés, nous ne pouvons pas conclure qu'il existe un lien entre l'hydrophilie de la surface du PVC et la sorption du DZP et des PA. Mais il semblerait qu'avec le TOTM, une surface plus hydrophile permet de réduire la sorption du PA.

c. Extraction des plastifiants

Nous avons voulu vérifier que les granulés fournis par l'industriel correspondent bien à la quantité annoncée, à savoir 35% m/m de TOTM et 30% m/m de DINCH. De plus, afin de

s'assurer que la fabrication des films par la presse n'altérerait pas les plastifiants, une extraction a également été réalisée sur les feuilles et les films.

Les résultats de l'extraction du DINCH et du TOTM contenus dans les granulés, feuilles et films sont résumés dans le tableau 29.

Tableau 29 : Concentration de plastifiant dosé dans les granulés, feuilles et films de PVC (n = 5).

Plastifiant	Échantillon	% de plastifiant (g/100 g de PVC)
TOTM	Granulé	31,3 ± 4,4%
	Feuille	32,2 ± 1,5%
	Film	35,5 ± 2,0%
DINCH	Granulé	29,1 ± 3,0%
	Feuille	30,3 ± 2,8%
	Film	30,5 ± 2,2%

Nous avons également comparé le taux de plastifiants extraits directement après la fonctionnalisation avec celui extrait après les étapes de migration, dans le but de vérifier que la fonctionnalisation ne modifiait pas le taux de plastifiant contenu dans le PVC, ce qui pourrait avoir un impact sur les propriétés mécaniques du DM.

La figure 74 représente les résultats de la comparaison du pourcentage du plastifiant extrait :

- Après la fonctionnalisation et la migration
- Directement après la fonctionnalisation

Les résultats du test statistique (Wilcoxon, échantillons appariés) sont résumés dans le tableau 30. Les valeurs retrouvées entre le pourcentage de plastifiant ayant migré et l'extraction réalisée après la migration ne sont pas statistiquement différentes du pourcentage extrait directement après la fonctionnalisation. Ainsi, notre technique de migration est validée puisque la concentration de plastifiant est retrouvée et que les fonctionnalisations utilisées ne modifient pas la concentration des plastifiants. En effet, si la concentration en plastifiant

était changée, cela pourrait avoir des conséquences sur les propriétés mécaniques finales des DMs.

Concernant notre procédé d'extraction contenant du THF pour dissoudre le PVC et du méthanol pour précipiter le PVC, le rendement d'extraction est de $99,7 \pm 0,5\%$ pour le TOTM et de $90,6 \pm 1,8\%$ pour le DINCH (77). Nous avons mesuré une concentration en TOTM dans les films de $35,5 \pm 2,0\%$ pour une concentration annoncée par le fabricant de 35% et de $30,5 \pm 2,2\%$, ce qui correspond à celle annoncée par le fabricant (30%).

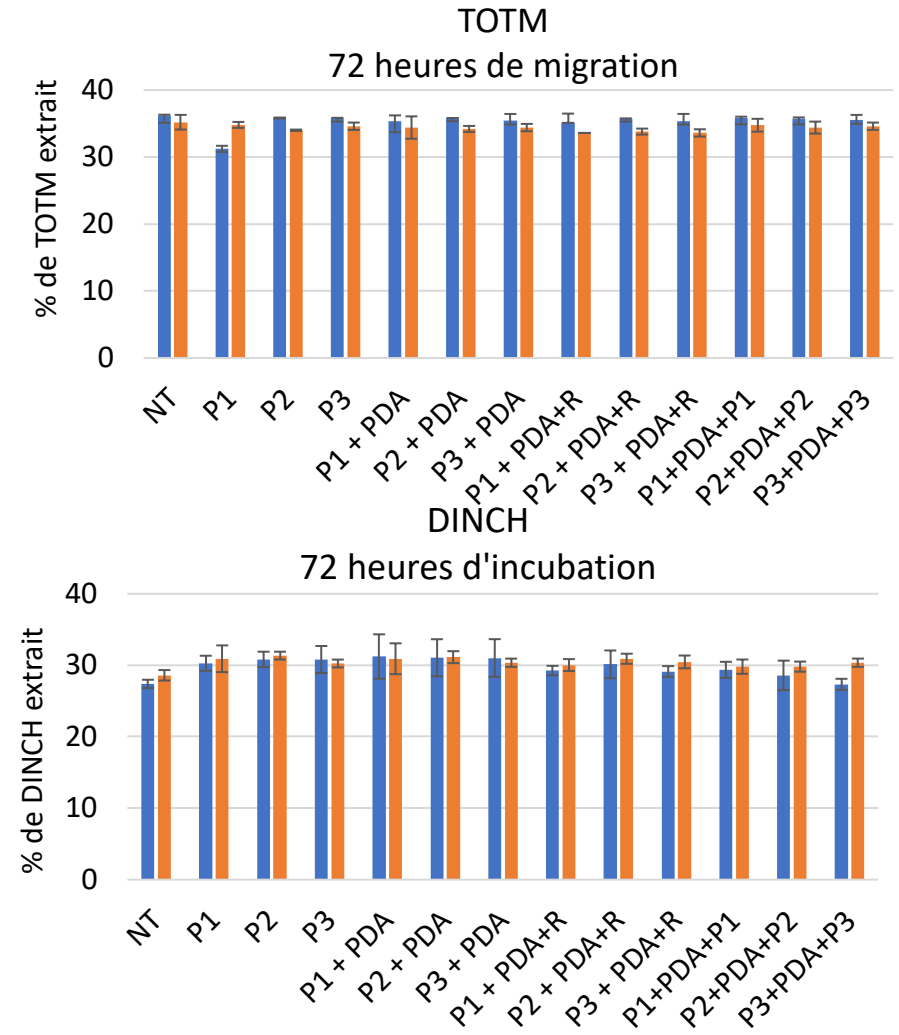
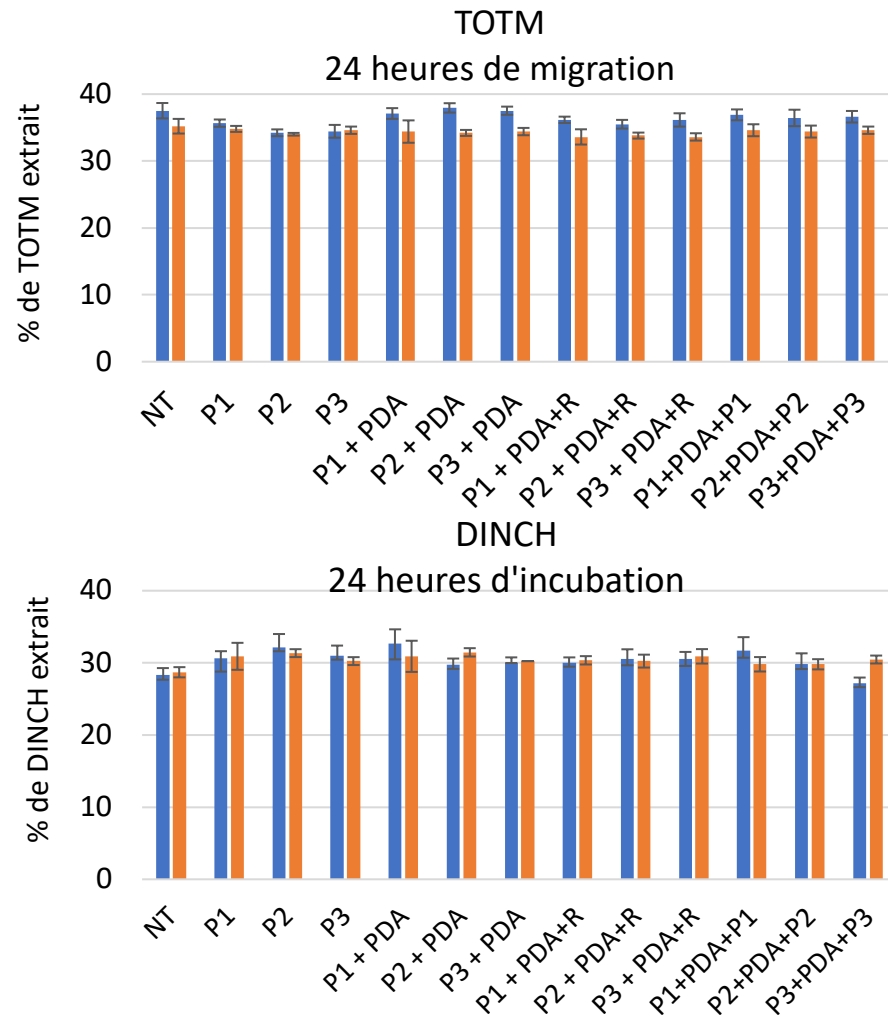


Figure 74 : Comparaison entre le pourcentage de plastifiant ayant migré puis extrait (en bleu) et celui directement extrait après fonctionnalisation (en orange) (n = 10 pour le PVC NT, n = 5 pour le PVC fonctionnalisé). P : plasma froid, P1 = 180 secondes et 100 SCCM, P2 = 60 secondes et 850 SCCM, P3 = 60 secondes et 500 SCCM. PDA = polydopamine. R = recuit (140°C pendant 1 heure).

Tableau 30 : Probabilités issues de la comparaison entre le pourcentage de plastifiant ayant migré pendant 24 heures et 72 heures et extrait après migration et celui directement extrait après la fonctionnalisation ($\alpha = 0,05$). N = 5.

	TOTM		DINCH	
	24 heures	72 heures	24 heures	72 heures
NT	0,063	0,375	0,508	0,109
P1	0,063	0,063	1,000	1,000
P2	0,375	0,063	0,375	1,000
P3	1,000	0,063	1,000	1,000
P1 + PDA	0,375	1,000	0,625	0,625
P2 + PDA	0,063	0,063	0,125	1,000
P3 + PDA	0,063	0,375	1,000	0,125
P1 + PDA+R	0,063	0,375	0,125	0,063
P2 + PDA+R	0,063	0,063	0,063	1,000
P3 + PDA+R	0,063	0,063	0,063	0,063
P1+PDA+P1	0,063	0,625	0,375	0,375
P2+PDA+P2	0,063	0,063	0,063	1,000
P3+PDA+P3	0,063	0,375	0,063	0,375

d. Migration des plastifiants

Dans cette partie, nous allons présenter les résultats de migration du TOTM et du DINCH issus des disques fonctionnalisés. Il s'agit d'une autre interaction contenu-contenant dans laquelle les plastifiants initialement contenus dans le PVC, n'étant pas liés de manière covalente au polymère, peuvent migrer dans la solution médicamenteuse perfusée au patient et ainsi lui être administré. Nous pouvons également rappeler qu'il existe plusieurs types de plastifiants et que certains d'entre eux ont déjà montré leur toxicité. Il convient donc, si l'utilisation du PVC est nécessaire, de réduire au maximum cette migration de plastifiants.

Il a fallu, dans un premier temps valider les méthodes de dosage des plastifiants dilués dans un mélange d'eau ultrapure et d'éthanol 96% (50/50) qui correspond au simulant utilisé pour faire migrer ces molécules.

Les paramètres de la validation de gamme sont résumés dans le tableau 31. Les gammes validées permettent de quantifier la migration du TOTM et du DINCH dans les échantillons fonctionnalisés. Les concentrations étudiées du TOTM sont plus faibles que celles du DINCH, car le TOTM est connu pour moins migrer (102,140).

Tableau 31 : Paramètres de validation des gammes de migration du TOTM et du DINCH.

Produits	Concentrations étudiées	r ²	LD	LQ
TOTM	1 – 30 µg/mL	0,9990	0,7 µg/mL	0,9 µg/mL
DINCH	50-200 µg/mL	0,9910	15 µg/mL	30 µg/mL

i. TOTM

Les résultats de la migration du TOTM après 24 et 72 heures sont présentés dans la figure 75 et le tableau 41 en annexe 3. Le TOTM contenu dans le PVC NT migre à hauteur de $0,035 \pm 0,008\%$ et $0,054 \pm 0,005\%$ au bout de 24 heures et 72 heures respectivement dans le simulant. Les fonctionnalisations par P seule et P+PDA ne permettent pas de diminuer cette migration. En revanche, les fonctionnalisations avec un recuit et un post-traitement plasma permettent de réduire d'environ 60% la migration du TOTM (tableau 32). En effet, avec le recuit, après 24 heures, les pourcentages de TOTM ayant migré sont de : $0,014 \pm 0,005\%$; $0,011 \pm 0,001\%$ et $0,015 \pm 0,002\%$ pour P1+PDA+R ; P2+PDA+R et P3+PDA+R respectivement. Lorsque le plasma est utilisé en post-traitement, le pourcentage de TOTM ayant migré après 24 heures est de $0,017 \pm 0,001\%$; $0,012 \pm 0,001\%$ et $0,026 \pm 0,004\%$ pour P1+PDA+P1 ; P2+PDA+P2 et P3+PDA+P3 respectivement.

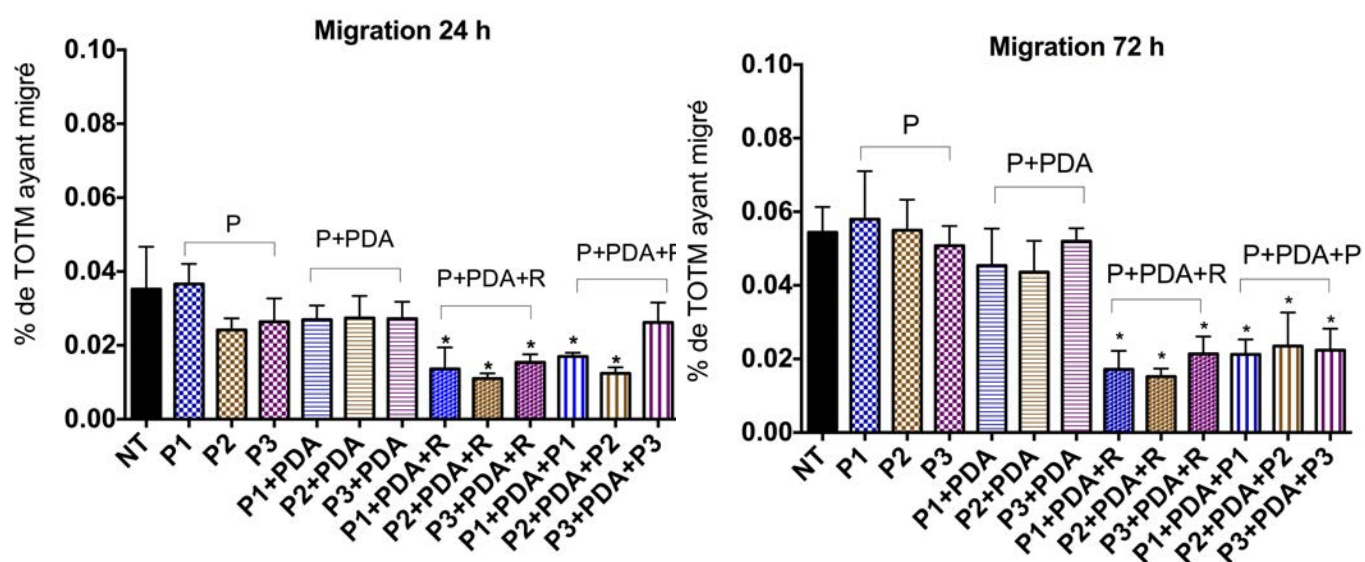


Figure 75 : Pourcentage de TOTM ayant migré pendant 24 heures et 72 heures d'incubation (n = 10 pour le PVC NT, n = 5 pour les disques en PVC fonctionnalisés). * p < 0,0001.

P : plasma froid, P1 = 180 secondes et 100 SCCM, P2 = 60 secondes et 850 SCCM, P3 = 60 secondes et 500 SCCM. PDA = polydopamine. R = recuit (140°C pendant 1 heure).

Tableau 32 : Écart-relatif entre la migration du TOTM du PVC NT et du PVC fonctionnalisé, (n = 10 pour le PVC NT, n = 5 pour le PVC fonctionnalisé).

	24 heures	72 heures
P1	6%	7%
P2	-31%	1%
P3	-26%	-7%
P1 + PDA	-23%	-17%
P2 + PDA	-23%	-20%
P3 + PDA	-23%	-4%
P1 + PDA + R	-60%	-68%
P2 + PDA + R	-69%	-72%
P3 + PDA + R	-57%	-61%
P1 + PDA + P1	-51%	-61%
P2 + PDA + P2	-66%	-57%
P3 + PDA + P3	-26%	-59%

Concernant la migration du TOTM, comme pour la sorption du DZP, la fonctionnalisation permettant de limiter le plus cette migration est l'utilisation du plasma en post-traitement (sauf la condition P3+PDA+P3 qui ne permet pas de réduire significativement la migration à 24 heures).

ii. DINCH

Le DINCH NT migre à hauteur de $2,70 \pm 0,23\%$ après 24 heures et $3,01 \pm 0,31\%$ après 72 heures d'incubation (figure 76 et tableau 42 en annexe 3). Comme pour le TOTM, le plasma seul et P+PDA ne permettent pas de réduire significativement la migration du DINCH. En effet, après 24 heures d'incubation, la migration est comprise entre 2,02 et 2,45% pour ces fonctionnalisations (sauf pour P2+PDA : $1,88 \pm 0,24\%$).

La fonctionnalisation qui permet de réduire significativement cette migration est P + PDA + P, quelle que soit la condition de plasma utilisée, avec une diminution de la migration comprise entre 35 et 40% par rapport au PVC NT (tableau 33).

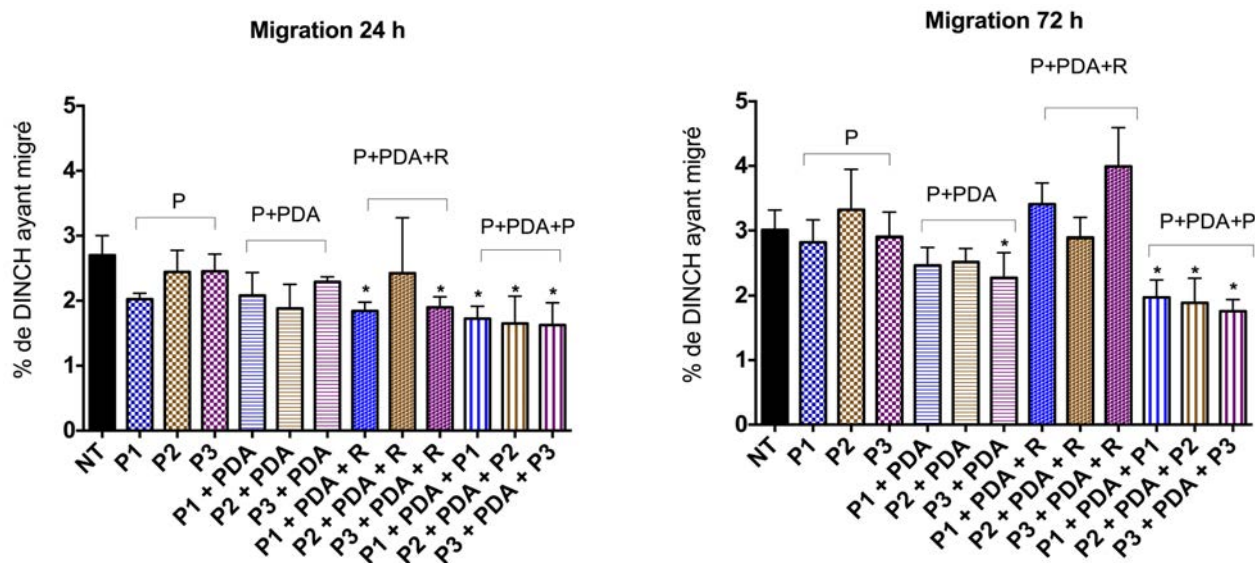


Figure 76 : Pourcentage de DINCH ayant migré pendant 24 heures et 72 heures (n = 10 pour le PVC NT, n = 5 pour le PVC fonctionnalisé). * p < 0,0001.

P : plasma froid, P1 = 180 secondes et 100 SCCM, P2 = 60 secondes et 850 SCCM, P3 = 60 secondes et 500 SCCM. PDA = polydopamine. R = recuit (140°C pendant 1 heure).

Tableau 33 : Écart-relatif entre la migration du DINCH du PVC NT et du PVC fonctionnalisé (n = 10 pour le PVC NT, n = 5 pour le PVC fonctionnalisé).

	24 heures	72 heures
P1	-25%	-6%
P2	-9%	+10%
P3	-9%	-3%
P1 + PDA	-23%	-18%
P2 + PDA	-30%	-16%
P3 + PDA	-15%	-24%
P1 + PDA + R	-32%	+13%
P2 + PDA + R	-10%	-4%
P3 + PDA + R	-30%	+33%
P1 + PDA + P1	-36%	-34%
P2 + PDA + P2	-39%	-37%
P3 + PDA + P3	-40%	-42%

Avec le recuit, la migration du DINCH à 72 heures est supérieure avec cette fonctionnalisation à celle obtenue avec le NT (sauf pour P2+PDA+R : $2,89 \pm 0,31\%$). Les pourcentages de migration pour P+PDA+R sont de : $3,41 \pm 0,03\%$ et $3,99 \pm 0,60\%$ pour les conditions 1 et 3 du plasma respectivement, alors que le DINCH NT a migré à hauteur de $3,01 \pm 0,31\%$. L'hypothèse est que le post-traitement thermique fait remonter le DINCH à la surface, ce qui favorise sa migration. En effet, Hankett *et al.* (170) ont déjà montré que le traitement post-thermique faisait migrer le DEHP à la surface de l'échantillon. Or, ces deux plastifiants qui sont ceux qui migrent le plus (102,140), peuvent avoir des comportements migratoires similaires.

Toutefois, ce post-traitement thermique ne semble pas faire migrer le TOTM à la surface, puisque cette fonctionnalisation permet de réduire de plus de 60% la migration du TOTM. Il faudra cependant réaliser des analyses de la surface pour confirmer cela. Ceci peut s'expliquer par le fait que le TOTM a déjà tendance à moins migrer que le DINCH, ainsi le recuit n'a pas d'impact sur sa migration à la surface.

Contrairement aux travaux de Bernard *et al.* (102) dans lesquels le taux de TOTM ayant migré était similaire après 24 heures et 72 heures de migration, nos résultats montrent que la migration du TOTM évolue au cours du temps. En effet, elle est de $0,035 \pm 0,008\%$ et à $0,054 \pm 0,005\%$ après 24 et 72 heures de migration respectivement. Cette différence avec les résultats de Bernard *et al.* est également retrouvée pour le DINCH qui continue à migrer dans notre étude à 72 heures. En revanche, nous avons trouvé que le DINCH migrait beaucoup plus que le TOTM, comme l'attestent les études de Bernard *et al.* et de Faessler *et al.* (140). Toutefois, les pourcentages de migration retrouvés pour les deux plastifiants sont plus faibles que Bernard *et al.* Ces auteurs ont retrouvé des taux de TOTM de $0,20 \pm 0,05\%$ et $0,28 \pm 0,04\%$ et des taux de DINCH de $3,52 \pm 0,47\%$ et $3,30 \pm 0,27\%$ après 24 heures et 72 heures d'incubation, alors que nos taux retrouvés sont beaucoup plus faibles. La méthodologie des deux études n'est pas identique puisqu'ils avaient utilisé un grand volume de simulant (125 mL) ainsi que de grands échantillons (environ 2g) alors que dans notre étude le volume de simulant était de 1 mL pour le TOTM et de 10 mL pour le DINCH et les échantillons pesaient environ 40 mg. Les taux de migration étant différents entre nos deux plastifiants étudiés, un volume plus grand de simulant (10 mL) a dû être utilisé pour le DINCH en comparaison au TOTM (1 mL). Cette différence de comportement migratoire entre le TOTM et le DINCH peut

s'expliquer par les caractéristiques physico-chimiques des plastifiants. En effet, le TOTM a un poids moléculaire plus élevé que le DINCH et par la présence de ses trois chaînes alkyles, le TOTM a un encombrement stérique beaucoup plus important que le DINCH. Ainsi, le TOTM aura peu tendance à migrer, en comparaison du DINCH.

Dans l'étude de Zhang *et al.*, le traitement par du plasma argon seul semble favoriser la migration de l'ATBC en comparaison au traitement avec de l'oxygène seul (222). Toutefois, nos résultats de migration avec le TOTM et le DINCH traités avec du plasma froid ne concordent pas avec cette étude. En effet, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre la migration du PVC NT et celui fonctionnalisé par du plasma seul. Selon les auteurs, le plasma argon entraînerait des scissions des chaînes de PVC, des réarrangements moléculaires ainsi qu'une perte de groupements méthyles terminaux. Ces modifications auraient pour conséquence une baisse des interactions entre les chaînes de PVC et le plastifiant (ATBC), ce qui favoriserait la migration de ce dernier. Toutefois, dans cette étude, aucun dosage de la migration de l'ATBC avant et après traitement par de l'argon n'a été réalisé.

4. Conclusion

Cette étude réalisée sur du PVC plastifié au TOTM ou au DINCH avait pour objectif de fonctionnaliser l'extrême surface du polymère afin de limiter les interactions contenu-contenant. Le PVC, matériau polymère le plus couramment utilisé dans la fabrication des DM de perfusion, présente l'inconvénient d'être particulièrement sujet aux phénomènes de sorption des PA et de migration des plastifiants. Une modification de surface semble alors une bonne alternative pour résoudre ces phénomènes. Pour cela, une revue de la littérature a été réalisée permettant de s'orienter vers deux types de traitements. Un traitement physique qu'est le plasma froid basse pression d'argon et un traitement chimique constitué d'un revêtement de PDA. Différentes combinaisons de fonctionnalisations ont été réalisées. La fonctionnalisation proposée repose sur un pré-traitement plasma par la technique du plasma froid basse pression, suivi d'un revêtement de PDA et d'un post-traitement thermique ou par plasma froid basse pression dans le but de diminuer la sorption et la migration des plastifiants.

En conclusion, cette étude a permis de montrer que pour répondre à nos objectifs concernant le PVC-TOTM, la fonctionnalisation associant un recuit comme dernière fonctionnalisation permet de limiter ces interactions. En effet, à J1, la sorption du DZP par rapport au PVC-NT est réduite de 36% (P1+PDA+R); 43% (P2+PDA+R); et 34% (P3+PDA+R) et la migration du plastifiant est réduite de 60% (P1+PDA+R) ; 69% (P2+PDA+R) et 57% (P2+PDA+R). A J3, la sorption du PA est réduite de 33% ; 33% et 30% pour P1+PDA+R ; P2+PDA+R et P3+PDA+R respectivement, concernant la migration du TOTM, les fonctionnalisations par P1+PDA+R ; P2+PDA+R et P3+PDA+R permettent de la réduire de 68% ; 72% ; et 61% par rapport au PVC-NT. Les fonctionnalisations par le post-traitement plasma semblent également prometteuses puisqu'elles permettent de réduire à 24 heures de 41% (P1+PDA+P1); 42% (P2+PDA+P2) et 34% (P3+PDA+P3) la sorption du DZP, mais également de 51% (P1+PDA+P1); 66% (P2+PDA+P2) et 26% (P3+PDA+P3) la migration du TOTM. En ce qui concerne les résultats à 72 heures, ces fonctionnalisations permettent de diminuer de 45% (P1+PDA+P1); 31% (P2+PDA+P2) et 37% (P3+PDA+P3) la sorption du DZP, ainsi que de 61% ; 57% et 59% la migration du TOTM pour P1+PDA+P1; P2+PDA+P2 et P3+PDA+P3 respectivement.

Concernant le PVC-DINCH, le traitement associant une triple fonctionnalisation par du plasma froid d'argon basse pression, de la PDA et de nouveau du plasma froid semble prometteuse. Elle permet de réduire à J1 de 36% (P1+PDA+P1) ; 39% (P2+PDA+P2) et 40% (P3+PDA+P3) la sorption du DZP et de 34% (P1+PDA+P1) ; 37% (P2+PDA+P2) et 42% (P3+PDA+P3) la migration du DINCH par rapport au PVC-NT. A J3, la sorption est réduite de 34% (P1+PDA+P1) ; 37% (P2+PDA+P2) et 42% (P2+PDA+P2) et la migration du DINCH de 12% (P1+PDA+P1) ; 14% (P2+PDA+P2) et 12% (P3+PDA+P3) par rapport au PVC-NT.

Toutefois, nous nous sommes intéressés dans cette étude qu'à la fonctionnalisation du PVC pour limiter ces interactions juste après leur traitement. Une étude de vieillissement du traitement (223) devra être réalisée afin de vérifier que les conditions de stockage des DMs n'altèrent pas la fonctionnalisation réalisée. D'autant plus que les durées de stockage peuvent être de plusieurs années avant que ces DMs ne soient utilisés.

Ces fonctionnalisations devront être transposées sur les DMs commercialisés, à savoir les prolongateurs et les tubulures de perfusion. Une mise au point, notamment avec le traitement

par plasma sera nécessaire afin que l'argon diffuse de manière constante tout au long de la lumière interne des tubulures quels que soient les longueurs et diamètres internes de celles-ci. Un gaz booster pourra être utilisé, en prenant modèle sur les procédés de stérilisation. De plus, la fonctionnalisation qui permet de réduire les interactions contenu-contenant avec le PVC plastifié au DINCH et dont la dernière étape est un traitement par plasma rendrait éventuellement possible une stérilisation finale grâce au gaz plasma. Une autre limite de cette étude concerne la PDA qui présente l'inconvénient de colorer en noir le PVC, perdant ainsi un de ses avantages, la transparence. En effet, cette caractéristique permet d'apprécier la formation éventuelle de précipités en cas de médicaments incompatibles.

Conclusion générale

Le polychlorure de vinyle est un matériau très utilisé dans les services de soins mais qui présente l'inconvénient d'être sujet aux interactions contenu-contenant, à savoir la sorption des PA et la migration des plastifiants. Les objectifs de cette thèse étaient d'une part de mettre en évidence les interactions contenu-contenant (sorption des PA et migration des plastifiants) et de fonctionnaliser l'extrême surface du polymère afin de les limiter.

Au travers de deux spécialités commerciales d'insuline (Umuline rapide[®] et Novorapid[®]), le phénomène de sorption a été mis en exergue avec les matériaux utilisés dans la perfusion des médicaments : le PVC, le PE et le co-extrudé (PE/PVC). Une interaction importante existe entre ce matériau et les conservateurs (phénol et métacrésol), une interaction moindre existe également pendant la première heure de perfusion avec l'insuline avec les prolongateurs en PVC. En revanche, aucune interaction significative n'a été mise en évidence avec le PE ou le PE/PVC. Les conservateurs contenus dans ces médicaments sont indispensables au maintien de la protéine sous sa conformation la plus stable. Une déplétion de ses conservateurs pose la problématique de l'efficacité biologique de l'insuline sans ses conservateurs. Ainsi, les perfusions d'insuline doivent être réalisées avec des prolongateurs en PE ou en PE/PVC pour permettre l'administration de l'ensemble de la formulation pharmaceutique.

Des plastifiants sont ajoutés au PVC pour lui apporter de la flexibilité et de la souplesse. Toutefois, ces plastifiants ne sont pas liés de manière covalente avec le polymère, ils peuvent migrer dans la solution médicamenteuse perfusée au patient et ainsi lui être administré. Il s'agit du phénomène de migration, qui est d'autant plus problématique pour les patients que certains de ces plastifiants sont désormais classés comme CMR. Ainsi, nous avons optimisé une méthode de dosage qui a permis la caractérisation de tous les plastifiants utilisés dans la fabrication des DMs en PVC. Cette méthode est compatible avec la méthode d'extraction qui doit être réalisée au préalable pour doser les plastifiants dans la masse de PVC. Cette méthode de dosage en CLHP-DAD utilise les spectres UV dérivés de certains plastifiants et permet la quantification concomitante des 7 plastifiants à l'état majoritaire, minoritaires et de traces en 13 minutes. Une comparaison de cette technique avec d'autres (telles que la CG-SM, RMN...),

dans le cadre d'un projet national de l'ANSM, a permis d'obtenir des résultats similaires dans le dosage de 10 DMs. Cette méthode de dosage a donc été utilisée dans les études de migration pour comparer les différentes fonctionnalisations.

Malgré la mise en évidence de ces interactions avec le PVC, celui-ci continue d'être très présent dans les DMs de perfusion. Le remplacement du PVC par d'autres matériaux comme le PE, le PUR... semble difficile.

Pour limiter ces interactions une des solutions possibles est de fonctionnaliser l'extrême surface du PVC tout en conservant les propriétés en profondeur de celui-ci.

Ainsi, notre étude de fonctionnalisation a été réalisée sur du PVC plastifié au TOTM et au DINCH, plastifiants les plus retrouvés dans les DMs de perfusion, en ayant comme double objectifs de réduire la sorption des PA et le relargage des plastifiants. Nous avons utilisé le DZP comme molécule traceuse de sorption. La fonctionnalisation proposée repose sur la combinaison associant un pré-traitement plasma par la technique du plasma froid basse pression, suivi d'un revêtement PDA et d'un traitement post-thermique ou par plasma dans le but de créer une barrière à la surface du PVC. Le plasma froid d'argon permet de réticuler la surface du PVC. L'ajout d'une couche de PDA sur le PVC permet de créer une barrière physique et le post-traitement réticule cette couche de PDA pour renforcer cet effet barrière. Une fonctionnalisation efficace permet une réduction de la sorption du DZP et de la migration des plastifiants.

L'utilisation du plasma froid d'argon basse pression associé à de la PDA et de nouveau avec du plasma froid permettait de réduire d'environ 20% la sorption du DZP et de 40% la migration du DINCH. Pour le TOTM, la fonctionnalisation associant un recuit comme dernière fonctionnalisation permet de réduire d'environ 40% la sorption du DZP et de plus de 60% la migration de ce plastifiant.

D'autres études seront nécessaires pour confirmer ces résultats de sorption avec d'autres PA comme le DNIS, l'insuline... ainsi que des caractérisations physico-chimiques afin d'apprécier les modifications engendrées à la surface du PVC et des tests mécaniques permettant de vérifier que les propriétés du PVC ne sont pas modifiées.

Références bibliographiques

1. Bonnes Pratiques de perfusion : “Bon Usage du perfuseur par gravité”. OMÉDIT Centre-Val de Loire - Université de Lille 2 - EuroPharmat. Actualisation en septembre 2017. [cité le 3 août 2018]. Disponible sur : http://www.omedit-centre.fr/perfuseur/co/module_module2.html.
2. Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM). Analyse des ventes de médicaments en France en 2013 [cité le 30 Mars 2017]. Disponible sur : http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/3df7b99f8f4c9ee634a6a9b094624341.pdf.
3. Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM). Analyse des ventes de médicaments en France en 2011. [cité le 30 Mars 2018]. Disponible sur : http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/0e689f733291d5ddbb09f0ccc93e438.pdf.
4. Argaud L, Cour M, Martin O, Saint-Denis M, Ferry T, Goyatton A, et al. Changeovers of vasoactive drug infusion pumps: impact of a quality improvement program. *Crit Care Lond Engl*. 2007;11(6):R133.
5. Norme NF S 90-251 : spécifications relatives à la conception et aux performances des pousse-seringues électriques (décembre 1986). [cité le 25 Mars 2018].
6. Socle de connaissances sur la perfusion en anesthésie réanimation. Travail collectif validé le 11 janvier 2016. [cité le 25 Mars 2018]. Disponible sur : https://www.srlf.org/wp-content/uploads/2016/10/2016_-_socleperfusion2016-2.pdf.
7. Norme NF S 90-250 : spécifications relatives à la conception et aux performances des pompes à perfusion. [cité le 25 Mars 2018].
8. Fiche de bon usage, le perfuseur par gravité. Réactualisation en juin 2015. [cité le 25 Mars 2018]. Disponible sur : <http://www.euro-pharmat.com/abord-parenteral/61-perfuseur-par-gravite>.
9. Résumé des caractéristiques du produit de l’isuprel. Disponible sur : <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/frames.php?specid=68886179&typedoc=R&ref=R0165468.htm> [cité le 10 juillet 2018].
10. Résumé des Caractéristiques du Produit du nitroprussiate de sodium. Disponible sur : <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rcp/R0131867.htm>. [Cité le 10 juillet 2018].
11. Yu J, Sun L, Ma C, Qiao Y, Yao H. Thermal degradation of PVC: A review. *Waste Manag*. 2016 Feb;48:300–14.
12. Daniels PH. A brief overview of theories of PVC plasticization and methods used to evaluate PVC-plasticizer interaction. *J Vinyl Addit Technol*. 2008;15(4):219–23.
13. 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 Jul;38(7):1067–88.
14. 32: Polyvinyl Chlorides (PVC) Book chapter. *Chemical Resistance of Thermoplastics*, Volume 2, 2012, Pages 3177-3300.
15. Carrega M, coll. *Matériaux polymères*. 2007. Paris. 642 pages. (Dunod).
16. Fischer JH, Cwik MJ, Luer MS, Sibley CB, Deyo KL. Stability of fosphenytoin sodium with intravenous solutions in glass bottles, polyvinyl chloride bags, and polypropylene syringes.

Ann Pharmacother. 1997 May;31(5):553–9.

17. Gu Z, Wong A, Raquinio E, Nguyen A. Stability of Reconstituted Telavancin Drug Product in Frozen Intravenous Bags. *Hosp Pharm*. 2015 Jul;50(7):609–14.

18. Perez M, Décaudin B, Abou Chahla W, Nelken B, Barthélémy C, Lebuffe G, et al. In vitro analysis of overall particulate contamination exposure during multidrug IV therapy: impact of infusion sets. *Pediatr Blood Cancer*. 2015 Jun;62(6):1042–7.

19. Guide pratique sur les phtalates (03/02/2010). Europharmat. Disponible sur : <http://www.euro-pharmat.com/documents/Phtalates/phtalates030210.pdf>.

20. Monographie 3.1.13. Additifs pour plastiques (additif 01). Pharmacopée Européenne édition 9.5. Conseil de l'Europe, Strasbourg, France.

21. AuBuchon JP, Estep TN, Davey RJ. The effect of the plasticizer di-2-ethylhexyl phthalate on the survival of stored RBCs. *Blood*. 1988 Feb;71(2):448–52.

22. Labow RS, Card RT, Rock G. The effect of the plasticizer di(2-ethylhexyl)phthalate on red cell deformability. *Blood*. 1987 Jul;70(1):319–23.

23. Prowse CV, de Korte D, Hess JR, van der Meer PF, Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Collaborative. Commercially available blood storage containers. *Vox Sang*. 2014 Jan;106(1):1–13.

24. Ruzickova K, Cobbing M, Rossi M. Preventing Harm from Phtalates, avoiding PVC in Hospitals [Internet]. 2004. Available from: <http://www.pehsu.org/research/hsostenible/dehp/detailsdehp.pdf>.

25. 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>.

26. 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>.

27. 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.

28. 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 Nov 1;129:39–54.

29. WHO | State of the science of endocrine disrupting chemicals - 2012 [Internet]. WHO. [cited 2018 May 27]. Available from: <http://www.who.int/ceh/publications/endocrine/en/>

30. 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.

31. 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 Aug;113(8):1056–61.

32. Fischer CJ, Bickle Graz M, Muehlethaler V, Palmero D, Tolsa J-F. Phthalates in the NICU: is it safe? *J Paediatr Child Health*. 2013 Sep;49(9):E413-419.

33. 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 Jan;31(1):75–83.
34. 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 Dec;100(12):E1502-1511.
35. Voss C, Zerban H, Bannasch P, Berger MR. Lifelong exposure to di-(2-ethylhexyl)-phthalate induces tumors in liver and testes of Sprague-Dawley rats. *Toxicology*. 2005 Jan 31;206(3):359–71.
36. Thomas JA, Thomas MJ. Biological effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate and other phthalic acid esters. *Crit Rev Toxicol*. 1984;13(4):283–317.
37. 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 Nov;216(6):735–42.
38. Latini G, De Felice C, Presta G, Del Vecchio A, Paris I, Ruggieri F, et al. In utero exposure to di-(2-ethylhexyl)phthalate and duration of human pregnancy. *Environ Health Perspect*. 2003 Nov;111(14):1783–5.
39. 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 Sep;113(9):1222–5.
40. Verstraete S, Vanhorebeek I, Covaci A, Güiza F, Malarvannan G, Jorens PG, et al. Circulating phthalates during critical illness in children are associated with long-term attention deficit: a study of a development and a validation cohort. *Intensive Care Med*. 2015 Dec 14;42(3):379–92.
41. 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=JORFTEXT000000705968&categorieLien=id>.
42. 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>.
43. 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. Disponible sur : http://ec.europa.eu/health/archive/ph_risk/committees/04_scenihr/docs/scenihr_o_008.pdf.
44. 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 Apr;76:209–10.
45. 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/a71e772b5ecc88a7162758b5375e1bf.pdf.
46. 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>.
47. 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>.
48. Perinaud A, Jarrouj Souleibi C, Franck L, Gnamien S. Interdiction du DEHP dans les services de pédiatrie : applicable ou pas ? *Pharm Hosp Clin*. 2016 Mar;51(1):75–6.
49. 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.
50. Fischer Fumeaux CJ, Stadelmann Diaw C, Palmero D, M'Madi F, Tolsa J-F. Phthalate exposure in the neonatal intensive care unit. *Arch Pediatr*. 2015 Feb;22(2):203–10.
51. 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 Jun 30;412(1–2):47–51.
52. 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.
53. 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 Feb 15;949–950:99–108.
54. 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 Jan 25;118:206–13.
55. Eljezi T, Pinta P, Richard D, Pinguet J, Chezal J-M, Chagnon M-C, et al. In vitro cytotoxic effects of DEHP-alternative plasticizers and their primary metabolites on a L929 cell line. *Chemosphere*. 2017 Apr;173:452–9.
56. Romani F, Tropea A, Scarinci E, Federico A, Dello Russo C, Lisi L, et al. Endocrine disruptors and human reproductive failure: the in vitro effect of phthalates on human luteal cells. *Fertil Steril*. 2014 Sep;102(3):831–7.
57. Chen X, Xu S, Tan T, Lee ST, Cheng SH, Lee FWF, et al. Toxicity and estrogenic endocrine disrupting activity of phthalates and their mixtures. *Int J Environ Res Public Health*. 2014 Mar 14;11(3):3156–68.
58. 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>.

59. 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 Oct 21;26(10):1498–502.

60. Ito Y, Nakamura T, Yanagiba Y, Ramdhan DH, Yamagishi N, Naito H, et al. Plasticizers May Activate Human Hepatic Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α Less Than That of a Mouse but May Activate Constitutive Androstane Receptor in Liver. *PPAR Res*. 2012;2012:201284.

61. 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 Mar;46(3):990–1005.

62. 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 Oct;80(5):396–405.

63. Kaufmann W, Deckardt K, McKee RH, Butala JH, Bahnemann R. Tumor induction in mouse liver: di-isononyl phthalate acts via peroxisome proliferation. *Regul Toxicol Pharmacol RTP*. 2002 Oct;36(2):175–83.

64. 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.

65. 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 Oct;126:159–63.

66. David RM, White RD, Larson MJ, Herman JK, Otter R. Toxicity of Hexamoll[®] DINCH[®] following intravenous administration. *Toxicol Lett*. 2015 Oct 14;238(2):100–9.

67. 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 Jan;41:62–71.

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

69. Martis L, Freid E, Woods E. Tissue distribution and excretion of tri-(2-ethylhexyl)trimellitate in rats. *J Toxicol Environ Health*. 1987 Apr 1;20(4):357–66.

70. Projet ARMED. Disponible sur : http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/7faf39acfe694b071d8e815f1d550e92.pdf.

71. 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 Aug 27;262(1–2):83–91.

72. 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*. 2012 May 1;895–896:123–30.
73. 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 Mar 1;847(2):114–25.
74. Marcilla A, Garcia S, Garcia-Quesada JC. Migrability of PVC plasticizers. *Polym Test*. 2008 Apr;27(2):221–33.
75. Massard C, Bernard L, Cuffe 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.
76. Bernard L, Cuffe R, Bourdeaux D, Breyse 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 Feb;407(6):1651–9.
77. 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 Aug 15;965:158–63.
78. 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 Oct 23;1417:104–15.
79. 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 Sep 12;1359:277–86.
80. Wang Q, Storm BK. Separation and analysis of low molecular weight plasticizers in poly(vinyl chloride) tubes. *Polym Test*. 2005 May;24(3):290–300.
81. Projet ANR : Synthèse de plastifiants à base isosorbide par hydroesterification des oléfines. Disponible sur : <http://www.agence-nationale-recherche.fr/Projet-ANR-10-CD21-0006>.
82. 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).
83. Masse M, Genay S, Asche A, Barthélémy C, Storme L, Décaudin B, et al. Evolution en huit ans des matériaux et des plastifiants utilisés dans les dispositifs médicaux stériles en réanimation néonatale : application aux dispositifs médicaux d'administration. Présenté au 17ème congrès de la Société Française de Pharmacie Clinique, à Lille, du 7 au 9 février 2018.
84. Treleano A, Wolz G, Brandsch R, Welle F. Investigation into the sorption of nitroglycerin and diazepam into PVC tubes and alternative tube materials during application. *Int J Pharm*. 2009 Mar 18;369(1–2):30–7.
85. Doglietto GB, Bellantone R, Bossola M, Perri V, Ratto C, Pacelli F, et al. Insulin adsorption to three-liter ethylen vinyl acetate bags during 24-hour infusion. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 1989 Oct;13(5):539–41.
86. Bernard L, Eljezi T, Clauson H, Lambert C, Bouattour Y, Chennell P, et al. Effects of flow rate on the migration of different plasticizers from PVC infusion medical devices. *PLoS One*. 2018;13(2):e0192369.
87. 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 Jan 15;62(2):182–8.
88. Maiguy-Foinard A, Blanchemain N, Barthélémy C, Décaudin B, Odou P. Influence of a Double-Lumen Extension Tube on Drug Delivery: Examples of Isosorbide Dinitrate and Diazepam. *PLoS One*. 2016;11(5):e0154917.
 89. Smith JC, Davies MC, Melia CD, Denyer SP, Derrick MR. Uptake of drugs by catheters: the influence of the drug molecule on sorption by polyurethane catheters. *Biomaterials*. 1996 Aug;17(15):1469–72.
 90. Guenu S, Heng A-E, Charbonné F, Galmier M-J, Charlès F, Deteix P, et al. Mass spectrometry and scanning electron microscopy study of silicone tunneled dialysis catheter integrity after an exposure of 15 days to 60% ethanol solution. *Rapid Commun Mass Spectrom RCM*. 2007;21(2):229–36.
 91. Mulla, H., Lawson, G., Woodland, E. D., Peek, G. J., Killer, H., Firmin, R. K., & Upton, D. (2000). Effects of neonatal extracorporeal membrane oxygenation circuits on drug disposition. *Current Therapeutic Research - Clinical and Experimental*, 61(11), 838-848. DOI: 10.1016/S0011-393X(00)90010-9.
 92. Saller V, Matilainen J, Rothkopf C, Serafin D, Bechtold-Peters K, Mahler H-C, et al. Preservative loss from silicone tubing during filling processes. *Eur J Pharm Biopharm Off J Arbeitsgemeinschaft Pharm Verfahrenstechnik EV*. 2017 Mar;112:109–18.
 93. Guide SFPC-GERPAC, guide méthodologique des études de stabilité des préparations - Edition 2013 [cité le 25 Mars 2018]. Disponible sur <http://www.sfpc.eu/fr/item1/finish/34-documents-sfpc-public>.
 94. Tol A, Quik RF, Thyssen JH. Adsorption of human and porcine insulins to intravenous administration sets. *Pharm Weekbl Sci*. 1988 Oct 14;10(5):213–6.
 95. Airaudo CB, Bianchi C, Verdier M, Gayte-Sorbier A. Comparative sorption of clomipramine, viloxazine, and maprotiline hydrochlorides in polyvinylchloride bags and glass vials. *Clin Ther*. 1992 Apr;14(2):192–5.
 96. Martens HJ, De Goede PN, Van Loenen AC. Sorption of various drugs in polyvinyl chloride, glass, and polyethylene-lined infusion containers. *Am J Hosp Pharm*. 1990 Feb;47(2):369–73.
 97. Al Salloum H, Saunier J, Aymes-Chodur C, Barakat H, Yagoubi N. Impact of the nature and concentration of plasticizers on the ability of PVC to sorb drug. *Int J Pharm*. 2015 Dec 30;496(2):664–75.
 98. Baccaro S, Brunella V, Cecilia A, Costa L. γ irradiation of poly(vinyl chloride) for medical applications. *Nucl Instrum Methods Phys Res Sect B Beam Interact Mater At*. 2003 Aug 1;208:195–8.
 99. da Silva FF, da S. Aquino KA, Araújo ES. Effects of gamma irradiation on poly(vinyl chloride)/polystyrene blends: Investigation of radiolytic stabilization and miscibility of the mixture. *Polym Degrad Stab*. 2008 Dec 1;93(12):2199–203.
 100. Stabilis 4.0 [Internet]. [cité le 30 Mars 2018]. Disponible sur : <http://www.stabilis.org>.
 101. 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 Apr 1;35(1):57–64.
 102. Bernard L, Cuff R, Breyse C, Décaudin B, Sautou V. Migrability of PVC plasticizers from medical devices into a simulant of infused solutions. *Int J Pharm*. 2015 May 15;485(1–2):341–7.
 103. Zahid N, Taylor KMG, Gill H, Maguire F, Shulman R. Adsorption of insulin onto infusion sets used in adult intensive care unit and neonatal care settings. *Diabetes Res Clin Pract*. 2008

Jun;80(3):e11–3.

104. Jenke D. Evaluation of the chemical compatibility of plastic contact materials and pharmaceutical products; safety considerations related to extractables and leachables. *J Pharm Sci.* 2007 Oct;96(10):2566–81.

105. Ley S, Ammann J, Herder C, Hartmann M, Kindgen-Milles D. Variable adsorption of insulin at catheter materials used in intensive care units: polyethylene vs polyurethane – possible cause for hypoglycemia during intensive insulin treatment? *Crit Care.* 2007;11(Suppl 2):P127.

106. Masse M, Maton M, Genay S, Blanchemain N, Barthélémy C, Décaudin B, et al. In vitro assessment of the influence of intravenous extension set materials on insulin aspart drug delivery. *PLoS One.* 2018;13(8):e0201623.

107. Li LC, Zhang H, Pecosky DA. The effect of surfactant on drug-plastic sorption phenomenon in solution. *J Pharm Pharmacol.* 1993 Aug;45(8):748–9.

108. 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 Dec 1;63(23):2379–82.

109. Salomies HEM, Heinonen RM, Toppila MAI. Sorptive loss of diazepam, nitroglycerin and warfarin sodium to polypropylene-lined infusion bags (Softbags). *Int J Pharm.* 1994 Sep 19;110(2):197–201.

110. Weir SJ, Myers VA, Bengtson KD, Ueda CT. Sorption of amiodarone to polyvinyl chloride infusion bags and administration sets. *Am J Hosp Pharm.* 1985 Dec;42(12):2679–83.

111. Seifi A, Mowla A, Vaziri MMT, Talei AR, Namazy MR. Insulin adsorbance to polyvinylchloride (PVC) surfaces of fluid container and infusion-set. *Middle East J Anaesthesiol.* 2004 Jun;17(5):975–81.

112. Les insulines. Hôpitaux Universitaires Genève. [cité le 05 août 2018]. Disponible sur : <https://pharmacie.hug-ge.ch/infomedic/utilismedic/insulines.pdf>.

113. Papaioannou A, Kuyucak S, Kuncic Z. Computational study of the activity, dynamics, energetics and conformations of insulin analogues using molecular dynamics simulations: Application to hyperinsulinemia and the critical residue B26. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017 Sep;511:182–90.

114. Brange J, Skelbaek-Pedersen B, Langkjaer L, Damgaard U, Ege H, Havelund S, Heding LG, Jorgensen KH, Lykkeberg J, Markussen J, Pingel M, Rasmussen E. *Galenics of Insulin: The Physicochemical and Pharmaceutical Aspects of Insulin and Insulin Preparations* Springer-Verlag, Berlin, Germany (1987).

115. Lisi GP, Png CYM, Wilcox DE. Thermodynamic contributions to the stability of the insulin hexamer. *Biochemistry.* 2014 Jun 10;53(22):3576–84.

116. Berchtold H, Hilgenfeld R. Binding of phenol to R6 insulin hexamers. *Biopolymers.* 1999;51(2):165–72.

117. Smith GD, Ciszak E, Pangborn W. A novel complex of a phenolic derivative with insulin: structural features related to the T→R transition. *Protein Sci Publ Protein Soc.* 1996 Aug;5(8):1502–11.

118. Brange J, Owens DR, Kang S, Vølund A. Monomeric insulins and their experimental and clinical implications. *Diabetes Care.* 1990 Sep;13(9):923–54.

119. Holleman F, Hoekstra JB. Insulin lispro. *N Engl J Med.* 1997 Jul 17;337(3):176–83.

120. O'Neill SM, Kenny LC, Khashan AS, West HM, Smyth RM, Kearney PM. Different insulin types and regimens for pregnant women with pre-existing diabetes. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017 03;2:CD011880.

121. Ali NA, O'Brien JM, Blum W, Byrd JC, Klisovic RB, Marcucci G, et al. Hyperglycemia in patients with acute myeloid leukemia is associated with increased hospital mortality. *Cancer*. 2007;110(1):96–102.
122. Hirsch IB. Insulin analogues. *N Engl J Med*. 2005 Jan 13;352(2):174–83.
123. Kristensen PL, Tarnow L, Bay C, Nørgaard K, Jensen T, Parving H-H, et al. Comparing effects of insulin analogues and human insulin on nocturnal glycaemia in hypoglycaemia-prone people with Type 1 diabetes. *Diabet Med J Br Diabet Assoc*. 2017 May;34(5):625–31.
124. Rys P, Pankiewicz O, Łach K, Kwaskowski A, Skrzekowska-Baran I, Malecki MT. Efficacy and safety comparison of rapid-acting insulin aspart and regular human insulin in the treatment of type 1 and type 2 diabetes mellitus: a systematic review. *Diabetes Metab*. 2011 Jun;37(3):190–200.
125. Senesh G, Bushi D, Neta A, Yodfat O. Compatibility of insulin Lispro, Aspart, and Glulisine with the Solo MicroPump, a novel miniature insulin pump. *J Diabetes Sci Technol*. 2010 Jan 1;4(1):104–10.
126. Egi M, Bellomo R, Stachowski E, French CJ, Hart GK, Taori G, et al. Hypoglycemia and outcome in critically ill patients. *Mayo Clin Proc*. 2010 Mar;85(3):217–24.
127. Sola A, Larger E, M'Bemba J, Elgrably F, Slama G. Les nouvelles insulines : intérêts et inconvénients. *Réanimation - Vol 15 - N° 6 - P 454-460*. 2006 Dec 18;
128. Hewson M, Nawadra V, Oliver J, Odgers C, Plummer J, Simmer K. Insulin infusions in the neonatal unit: delivery variation due to adsorption. *J Paediatr Child Health*. 2000 Jun;36(3):216–20.
129. Fuloria M, Friedberg MA, DuRant RH, Aschner JL. Effect of flow rate and insulin priming on the recovery of insulin from microbore infusion tubing. *Pediatrics*. 1998 Dec;102(6):1401–6.
130. Ling J, Hu M, Hagerup T, Campbell RK. Lispro insulin: adsorption and stability in selected intravenous devices. *Diabetes Educ*. 1999 Apr;25(2):237–45.
131. Résumé des caractéristiques du diazepam [cité le 25 Mars 2018]. Disponible sur : https://evidal.vidal.fr/medicament/diazepam_arrow_10_mg_cp_sec-136008-indications.html.
132. Mehta V, Singhi P, Singhi S. Intravenous sodium valproate versus diazepam infusion for the control of refractory status epilepticus in children: a randomized controlled trial. *J Child Neurol*. 2007 Oct;22(10):1191–7.
133. Singhi S, Banerjee S, Singhi P. Refractory status epilepticus in children: role of continuous diazepam infusion. *J Child Neurol*. 1998 Jan;13(1):23–6.
134. Jin S-E, You S, Jeon S, Hwang S-J. Diazepam sorption to PVC- and non-PVC-based tubes in administration sets with quantitative determination using a high-performance liquid chromatographic method. *Int J Pharm*. 2016 Jun 15;506(1–2):414–9.
135. Kambia NK, Dine T, Dupin-Spriet T, Gressier B, Luyckx M, Goudaliez F, et al. Compatibility of nitroglycerin, diazepam and chlorpromazine with a new multilayer material for infusion containers. *J Pharm Biomed Anal*. 2005 Feb 23;37(2):259–64.
136. Strac IV, Pušić M, Gajski G, Garaj-Vrhovac V. Presence of phthalate esters in intravenous solution evaluated using gas chromatography-mass spectrometry method. *J Appl Toxicol JAT*. 2013 Mar;33(3):214–9.
137. Rucart P-A, Boyer-Grand A, Sautou-Miranda V, Bouteloup C, Chopineau J. Influence of unclogging agents on the surface state of enteral feeding tubes. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2011 Mar;35(2):255–63.
138. 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 Apr;27(2):139–42.
139. Luo H, Sun G, Shi Y, Shen Y, Xu K. Evaluation of the Di(2-ethylhexyl)phthalate released from polyvinyl chloride medical devices that contact blood. *SpringerPlus.* 2014;3:58.
140. Faessler D, McCombie G, Biedermann M, Felder F, Subotic U. Leaching of plasticizers from polyvinylchloride perfusion lines by different lipid emulsions for premature infants under clinical conditions. *Int J Pharm.* 2017 Mar 30;520(1–2):119–25.
141. Règlement (UE) n° 10/2011 de la Commission du 14/01/11 concernant les matériaux et objets en matière plastique destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires disponible sur : <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=CELEX%3A02011R0010-20140324> [cité le 03 juin 2018].
142. 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 Feb;145:10–6.
143. Fernandez-Canal C, Pinta P-G, Eljezi T, Larbre V, Kauffmann S, Camilleri L, et al. Patients' exposure to PVC plasticizers from ECMO circuits. *Expert Rev Med Devices.* 2018 May;15(5):377–83.
144. Dupertuis YM, Morch A, Fathi M, Sierro C, Genton L, Kyle UG, et al. Physical characteristics of total parenteral nutrition bags significantly affect the stability of vitamins C and B1: a controlled prospective study. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2002 Oct;26(5):310–6.
145. Balet A, Cardona D, Jané S, Molins-Pujol AM, Sánchez Quesada JL, Gich I, et al. Effects of multilayered bags vs ethylvinyl-acetate bags on oxidation of parenteral nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2004 Apr;28(2):85–91.
146. Gomis Muñoz P, Miguélez Sánchez S, Navarro González JA, Estenoz Alfaro J, Alegre del Rey E, Moreno Villares JM, et al. [Stability of vitamins in parenteral nutrition: a comparison of multi-layer and uni-layer bags]. *Nutr Hosp.* 1996 Oct;11(5):259–64.
147. Zygoura PD, Paleologos EK, Kontominas MG. Migration levels of PVC plasticisers: Effect of ionising radiation treatment. *Food Chem.* 2011 Sep 1;128(1):106–13.
148. Ferri M, Marcella F, Chiellini F, Federica C, Pili G, Giorgio P, et al. Di-(2-ethylhexyl)-phthalate migration from irradiated poly(vinyl chloride) blood bags for graft-vs-host disease prevention. *Int J Pharm.* 2012 Jul 1;430(1–2):86–8.
149. Ito R, Seshimo F, Haishima Y, Hasegawa C, Isama K, Yagami T, et al. Reducing the migration of di-2-ethylhexyl phthalate from polyvinyl chloride medical devices. *Int J Pharm.* 2005 Oct 13;303(1–2):104–12.
150. Fauchais P. "Plasmas thermiques : aspects fondamentaux". *Techniques de l'ingénieur Matériaux conducteurs et plasmas.* cité le 11 Septembre. Disponible sur : <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/energies-th4/materiaux-conducteurs-et-plasmas-42251210/plasmas-thermiques-aspects-fondamentaux-d2810/>. 2005;
151. Plasmas radiofréquence basse pression : des sources aux procédés. Disponible sur : <https://jrpf2014.sciencesconf.org/conference/jrpf2014/pages/Despiau.pdf>.
152. Osada Y. Plasma polymerization and plasma treatment of polymers. Review. *Polym Sci USSR.* 1988 Jan 1;30(9):1922–41.
153. Yang L, Chen J, Guo Y, Zhang Z. Surface modification of a biomedical polyethylene terephthalate (PET) by air plasma. *Appl Surf Sci.* 2009 Feb 1;255(8):4446–51.
154. Khorasani MT, Mirzadeh H. Effect of oxygen plasma treatment on surface charge and wettability of PVC blood bag—In vitro assay. *Radiat Phys Chem.* 2007 Jun;76(6):1011–6.

155. I. Kacem. Textiles à activité biologique via le greffage par plasma et l'immobilisation de molécules bioactives. Thèse de doctorat de l'Université de Lille 1, Mars 2012.
156. Triandafillu K, Balazs DJ, Aronsson B-O, Descouts P, Tu Quoc P, van Delden C, et al. Adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* strains to untreated and oxygen-plasma treated poly(vinyl chloride) (PVC) from endotracheal intubation devices. *Biomaterials*. 2003 Apr;24(8):1507–18.
157. Blanchemain N, Aguilar MR, Chai F, Jimenez M, Jean-Baptiste E, El-Achari A, et al. Selective biological response of human pulmonary microvascular endothelial cells and human pulmonary artery smooth muscle cells on cold-plasma-modified polyester vascular prostheses. *Biomed Mater Bristol Engl*. 2011 Dec;6(6):065003.
158. Degoutin S, Jimenez M, Casetta M, Bellayer S, Chai F, Blanchemain N, et al. Anticoagulant and antimicrobial finishing of non-woven polypropylene textiles. *Biomed Mater Bristol Engl*. 2012 Jun;7(3):035001.
159. Balazs DJ, Triandafillu K, Wood P, Chevolut Y, van Delden C, Harms H, et al. Inhibition of bacterial adhesion on PVC endotracheal tubes by RF-oxygen glow discharge, sodium hydroxide and silver nitrate treatments. *Biomaterials*. 2004 May;25(11):2139–51.
160. Ru L, Jie-rong C. Studies on wettability of medical poly(vinyl chloride) by remote argon plasma. *Appl Surf Sci*. 2006 May 15;252(14):5076–82.
161. Lakshmi S, Jayakrishnan A. Photocross-linking of dithiocarbamate-substituted PVC reduces plasticizer migration. *Polymer*. 1998 Jan 1;39(1):151–7.
162. Clemens H, Schubert DW, Dehm G, Scheu C, Buttstaedt JL. Characterization of biocompatible Ti(CNO) layers on polymeric substrates. *Appl Surf Sci*. 2003 Dec 15;219(3–4):329–37.
163. von Woedtke T, Metelmann H -R., Weltmann K -D. Clinical Plasma Medicine: State and Perspectives of in Vivo Application of Cold Atmospheric Plasma. 2014 February;54(2):104-117.
164. Adin CA, Royal KD, Moore B, Jacob M. Hydrogen peroxide plasma sterilization of a waterproof, high-definition video camera case for intraoperative imaging in veterinary surgery. *Vet Surg VS*. 2018 Jun 13;
165. Guide de stérilisation STERRAD® disponible sur : www.sterradsterilityguide.com. [cité le 25 Mars 2018].
166. Baquey C, Palumbo F, Porte-Durrieu MC, Legeay G, Tressaud A, d'Agostino R. Plasma treatment of expanded PTFE offers a way to a biofunctionalization of its surface. *Nucl Instrum Methods Phys Res Sect B Beam Interact Mater At*. 1999 May 2;151(1–4):255–62.
167. Hegemann D, Brunner H, Oehr C. Plasma treatment of polymers for surface and adhesion improvement. *Nucl Instrum Methods Phys Res Sect B Beam Interact Mater At*. 2003 Aug 1;208:281–6.
168. Bichler C, Kerbstadt T, Langowski H-C, Moosheimer U. Plasma-modified interfaces between polypropylene films and vacuum roll-to-roll coated thin barrier layers. *Surf Coat Technol*. 1999 Feb 1;112(1):373–8.
169. Gengenbach TR, Griesser HJ. Post-deposition ageing reactions differ markedly between plasma polymers deposited from siloxane and silazane monomers. *Polymer*. 1999 Aug 1;40(18):5079–94.
170. Hankett JM, Zhang C, Chen Z. Sum frequency generation and coherent anti-Stokes Raman spectroscopic studies on plasma-treated plasticized polyvinyl chloride films. *Langmuir ACS J Surf Colloids*. 2012 Mar 13;28(10):4654–62.
171. Audic J-L, Poncin-Epaillard F, Reyx D, Brosse J-C. Cold plasma surface modification of conventionally and nonconventionally plasticized poly(vinyl chloride)-based flexible films:

- Global and specific migration of additives into isooctane. *J Appl Polym Sci.* 79(8):1384–93.
172. Zhang X, Zhang C, Hankett JM, Chen Z. Molecular surface structural changes of plasticized PVC materials after plasma treatment. *Langmuir ACS J Surf Colloids.* 2013 Mar 26;29(12):4008–18.
173. Zhang X, Chen Z. Observing Phthalate Leaching from Plasticized Polymer Films at the Molecular Level. *Langmuir.* 2014 May 6;30(17):4933–44.
174. Lakshmi S, Jayakrishnan A. Synthesis, surface properties and performance of thiosulphate-substituted plasticized poly(vinyl chloride). *Biomaterials.* 2002 Dec;23(24):4855–62.
175. Raeisi A, Faghihi K, Shabani M. Designed biocompatible nano-inhibitor based on poly(β -cyclodextrin-ester) for reduction of the DEHP migration from plasticized PVC. *Carbohydr Polym.* 2017 Oct 15;174:858–68.
176. Lakshmi S, Jayakrishnan A. Migration resistant, blood-compatible plasticized polyvinyl chloride for medical and related applications. *Artif Organs.* 1998 Mar;22(3):222–9.
177. Nanci A, Wuest JD, Peru L, Brunet P, Sharma V, Zalzal S, et al. Chemical modification of titanium surfaces for covalent attachment of biological molecules. *J Biomed Mater Res.* 1998 May;40(2):324–35.
178. Pazokifard S, Mirabedini SM, Esfandeh M, Mohseni M, Ranjbar Z. Silane grafting of TiO₂ nanoparticles: dispersibility and photoactivity in aqueous solutions. *Surf Interface Anal.* 2012 Jan 1;44(1):41–7.
179. Verné E, Vitale-Brovarone C, Bui E, Bianchi CL, Boccaccini AR. Surface functionalization of bioactive glasses. *J Biomed Mater Res A.* 2009 Sep 15;90(4):981–92.
180. Josse S, Faucheux C, Soueidan A, Grimandi G, Massiot D, Alonso B, et al. Novel biomaterials for bisphosphonate delivery. *Biomaterials.* 2005 May;26(14):2073–80.
181. Sobocinski J, Laure W, Taha M, Courcot E, Chai F, Simon N, et al. Mussel inspired coating of a biocompatible cyclodextrin based polymer onto CoCr vascular stents. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2014 Mar 12;6(5):3575–86.
182. Lee H, Dellatore SM, Miller WM, Messersmith PB. Mussel-inspired surface chemistry for multifunctional coatings. *Science.* 2007 Oct 19;318(5849):426–30.
183. Bernsmann F, Ball V, Addiego F, Ponche A, Michel M, Gracio JJ de A, et al. Dopamine-melanin film deposition depends on the used oxidant and buffer solution. *Langmuir ACS J Surf Colloids.* 2011 Mar 15;27(6):2819–25.
184. Jiang J, Zhu L, Zhu L, Zhu B, Xu Y. Surface characteristics of a self-polymerized dopamine coating deposited on hydrophobic polymer films. *Langmuir ACS J Surf Colloids.* 2011 Dec 6;27(23):14180–7.
185. Wei Q, Zhang F, Li J, Li B, Zhao C. Oxidant-induced dopamine polymerization for multifunctional coatings. *Polym Chem.* 2010 Oct 12;1(9):1430–3.
186. Xi Z-Y, Xu Y-Y, Zhu L-P, Wang Y, Zhu B-K. A facile method of surface modification for hydrophobic polymer membranes based on the adhesive behavior of poly(DOPA) and poly(dopamine). *J Membr Sci.* 2009 Feb 5;327(1):244–53.
187. Dreyer DR, Miller DJ, Freeman BD, Paul DR, Bielawski CW. Elucidating the structure of poly(dopamine). *Langmuir ACS J Surf Colloids.* 2012 Apr 17;28(15):6428–35.
188. Lee H, Rho J, Messersmith PB. Facile Conjugation of Biomolecules onto Surfaces via Mussel Adhesive Protein Inspired Coatings. *Adv Mater Deerfield Beach Fla.* 2009 Jan 26;21(4):431–4.
189. Zhu L-P, Yu J-Z, Xu Y-Y, Xi Z-Y, Zhu B-K. Surface modification of PVDF porous membranes via poly(DOPA) coating and heparin immobilization. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2009 Feb

15;69(1):152–5.

190. Karle VA, Short BL, Martin GR, Bulas DI, Getson PR, Luban NL, et al. Extracorporeal membrane oxygenation exposes infants to the plasticizer, di(2-ethylhexyl)phthalate. *Crit Care Med.* 1997 Apr;25(4):696–703.

191. Hildenbrand SL, Lehmann H-D, Wodarz R, Ziemer G, Wendel HP. PVC-plasticizer DEHP in medical products: do thin coatings really reduce DEHP leaching into blood? *Perfusion.* 2005 Oct;20(6):351–7.

192. Münch F, Höllerer C, Klapproth A, Eckert E, Ruffer A, Cesnjevar R, et al. Effect of phospholipid coating on the migration of plasticizers from PVC tubes. *Chemosphere.* 2018 Mar 20;202:742–9.

193. Messori M, Toselli M, Pilati F, Fabbri E, Fabbri P, Pasquali L, et al. Prevention of plasticizer leaching from PVC medical devices by using organic–inorganic hybrid coatings. *Polymer.* 2004 Feb;45(3):805–13.

194. Bernard L, Cueff R, Massard C, Blavignac C, Awitor KO, Chopineau J, et al. Hybrid sol gel coating: A solution to prevent interactions between plasticized poly(vinyl chloride) and injectable drugs? *J Appl Polym Sci.* 2014 Apr 15;131(8):n/a-n/a.

195. Poulsen C, Jacobsen D, Palm L. Effect of ethylenediamine on chemical degradation of insulin aspart in pharmaceutical solutions. *Pharm Res.* 2008 Nov;25(11):2534–44.

196. Teska BM, Alarcón J, Pettis RJ, Randolph TW, Carpenter JF. Effects of phenol and meta-cresol depletion on insulin analog stability at physiological temperature. *J Pharm Sci.* 2014 Aug;103(8):2255–67.

197. Xu X, Fu Y, Hu H, Duan Y, Zhang Z. Quantitative determination of insulin entrapment efficiency in triblock copolymeric nanoparticles by high-performance liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anal.* 2006 Apr 11;41(1):266–73.

198. 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 Sep 21;45(1):82–96.

199. 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.

200. ICH (International Conference on Harmonisation). Harmonise tripartite guideline - stability testing of new drug substances and products Q1A(R2). 2003. Available from: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q1A_R2/Step4/Q1A_R2_Guideline.pdf [last accessed 04 March 2018].

201. Melberg SG, Havelund S, Villumsen J, Brange J. Insulin compatibility with polymer materials used in external pump infusion systems. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* 1988 Apr;5(3):243–7.

202. Gestion du patient diabétique en péri-opératoire. Disponible sur : http://sfar.org/wp-content/uploads/2016/03/EP5_fiches-imp.pdf. [cité le 25 mars 2018].

203. Weber C, Kammerer D, Streit B, Licht AH. Phenolic excipients of insulin formulations induce cell death, pro-inflammatory signaling and MCP-1 release. *Toxicol Rep.* 2015 Jan 1;2(Supplement C):194–202.

204. Masse M, Genay S, Feutry F, Simon N, Barthélémy C, Sautou V, et al. 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. *Talanta.* 2017 Jan 1;162:187–92.

205. Mollmann SH, Jorgensen L, Bukrinsky JT, Elofsson U, Norde W, Frokjaer S. Interfacial

- adsorption of insulin conformational changes and reversibility of adsorption. *Eur J Pharm Sci.* 2006 Feb;27(2–3):194–204.
206. Nielsen L, Frokjaer S, Brange J, Uversky VN, Fink AL. Probing the mechanism of insulin fibril formation with insulin mutants. *Biochemistry.* 2001 Jul 27;40(28):8397–409.
207. Kerr D, Wizemann E, Sensius J, Zacho M, Ampudia-Blasco FJ. Stability and performance of rapid-acting insulin analogs used for continuous subcutaneous insulin infusion: a systematic review. *J Diabetes Sci Technol.* 2013 Nov 1;7(6):1595–606.
208. Teska BM, Kumar A, Carpenter JF, Wempe MF. Analyzing insulin samples by size-exclusion chromatography: a column degradation study. *J Pharm Sci.* 2015 Apr;104(4):1555–60.
209. Havelund S, Ribel U, Hubálek F, Hoeg-Jensen T, Wahlund P-O, Jonassen I. Investigation of the Physico-Chemical Properties that Enable Co-Formulation of Basal Insulin Degludec with Fast-Acting Insulin Aspart. *Pharm Res.* 2015 Jul;32(7):2250–8.
210. Genay S, Décaudin B, Ethgen S, Alluin A, Babol E, Labreuche J, et al. Effect of insulin infusion line on glycaemic variability in a perioperative high dependency unit (HDU): a prospective randomised controlled trial. *Ann Intensive Care.* 2017 Dec;7(1):74.
211. 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 Mar;77:44–53.
212. 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 Oct;52(10):1166–70.
213. 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 Jul;34(13):1525–30.
214. 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 Mar 15;139:20–7.
215. Bernard L, Bourdeaux D, Pereira B, Azaroual N, Barthélémy C, Breyse C, et al. Analysis of plasticizers in PVC medical devices: Performance comparison of eight analytical methods. *Talanta.* 2017 Jan 1;162:604–11.
216. Genay S, Feutry F, Masse M, Barthélémy C, Sautou V, Odou P, et al. Identification and quantification by ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy of seven plasticizers in PVC medical devices. *Anal Bioanal Chem.* 2017 Feb;409(5):1271–80.
217. Marie C, Hamlaoui S, Bernard L, Bourdeaux D, Sautou V, Lémery D, et al. Exposure of hospitalised pregnant women to plasticizers contained in medical devices. *BMC Womens Health.* 2017 20;17(1):45.
218. Luo R, Tang L, Zhong S, Yang Z, Wang J, Weng Y, et al. In vitro investigation of enhanced hemocompatibility and endothelial cell proliferation associated with quinone-rich polydopamine coating. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2013 Mar 13;5(5):1704–14.
219. Drugbank [Internet]. [cité le 30 Mars 2018]. Disponible sur : <https://www.drugbank.ca./drugs/DB00829>. (diazepam).
220. Razavi M, Thakor AS. An oxygen plasma treated poly(dimethylsiloxane) bioscaffold coated with polydopamine for stem cell therapy. *J Mater Sci Mater Med.* 2018 May 3;29(5):54.
221. López J, Balart R, Jiménez A. Influence of crystallinity in the curing mechanism of PVC

plastisols. *Journal of Applied Polymer Science* Volume 91, Issue 1 5 January 2004 Pages 538-544.

222. Zhang X, Li Y, Hankett JM, Chen Z. The molecular interfacial structure and plasticizer migration behavior of “green” plasticized poly(vinyl chloride). *Phys Chem Chem Phys PCCP*. 2015 Jan 28;17(6):4472–82.

223. Mrad O, Saunier J, Aymes-Chodur C, Mazel V, Rosilio V, Agnely F, et al. Aging of a medical device surface following cold plasma treatment: Influence of low molecular weight compounds on surface recovery. *Eur Polym J*. 2011 Dec 1;47(12):2403–13.

224. Ramesh S, Leen KH, Kumutha K, Arof AK. FTIR studies of PVC/PMMA blend based polymer electrolytes. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2007 Apr;66(4–5):1237–42.

225. Wang J-C, Wang H, Huang L-L, Wang C-Q. Surface treatment with Fenton for separation of acrylonitrile-butadiene-styrene and polyvinylchloride waste plastics by flotation. *Waste Manag*. 2017 Sep;67:20–6.

226. Mussel-Inspired Polydopamine: A Biocompatible and Ultrastable Coating for Nanoparticles in Vivo [Internet]. [cited 2018 Sep 30]. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/ipdf/10.1021/nn404117j>

Annexes

Annexe 1 : principe de l'Oxygénation par Membrane Extra-Corporelle (ECMO)

Il s'agit d'une technique permettant l'assistance temporaire partielle ou complète de la pompe cardiaque et de l'échangeur gazeux pulmonaire. Ainsi, le sang veineux (non oxygéné) est pulsé grâce à la pompe puis oxygéné par la membrane avant d'être réinjecté au patient (figure 77).

L'ECMO est une suppléance externe, d'urgence et de courte durée.

Son utilisation est reconnue pour différentes indications telles que :

- Le choc cardiogénique réfractaire par infarctus du myocarde
- La myocardite fulminante
- Le rejet de greffon cardiaque
- L'arrêt cardio-respiratoire
- L'embolie pulmonaire grave

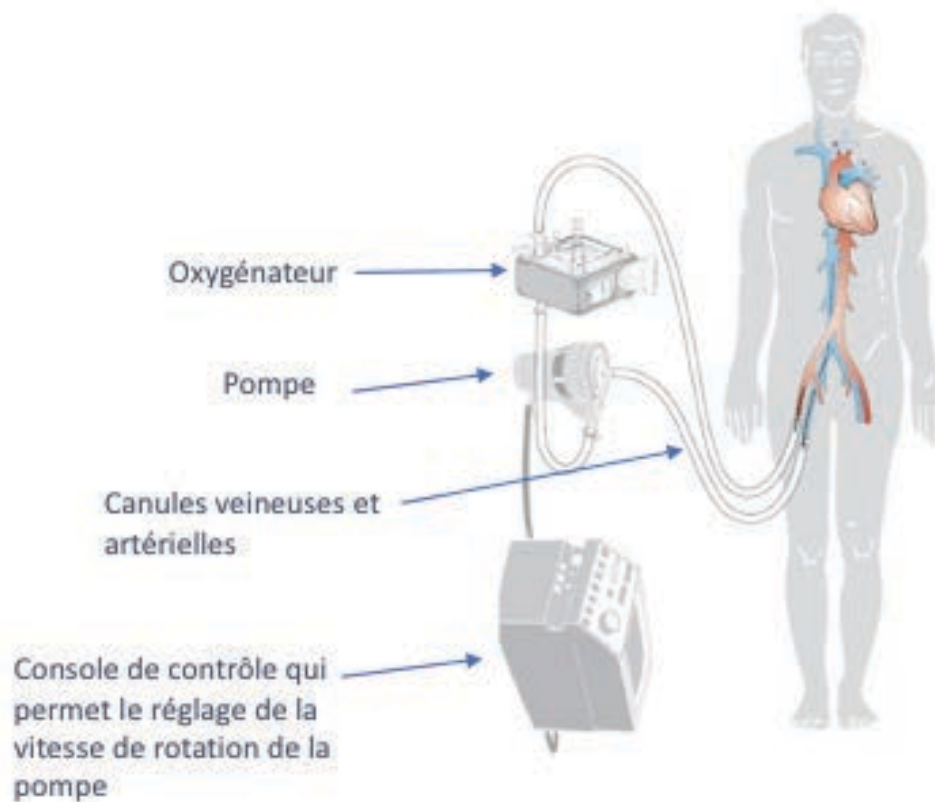
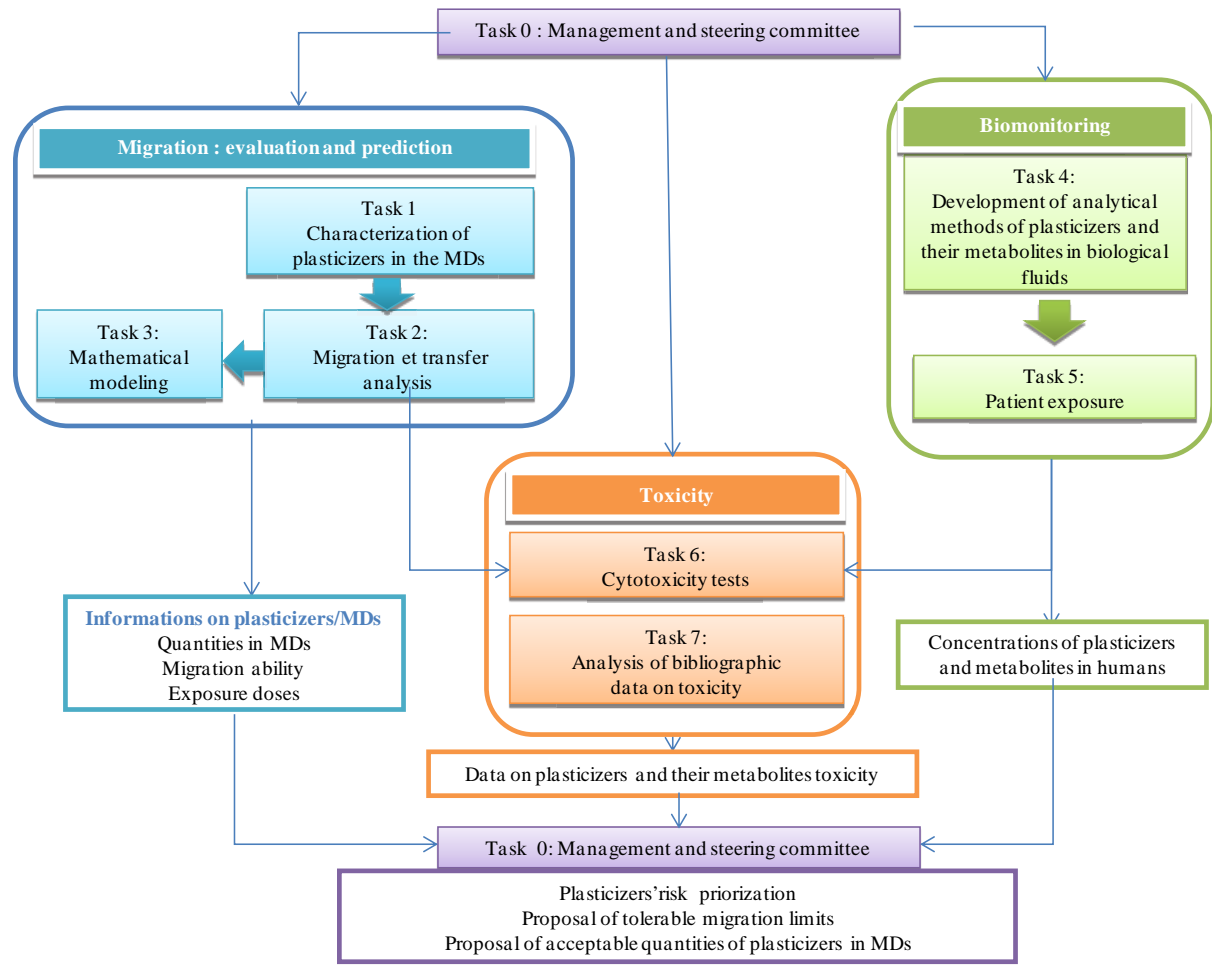


Figure 77 : Principe de l'Oxygénation par Membrane Extra-Corporelle.

Annexe 2 : les différents axes du projet ARMED (70)



Annexe 3 : tableaux chiffrés reprenant les différents résultats expérimentaux décrits sur les figures

Temps (heures)	Insuline humaine			Métacrésol		
	PVC	PE	PE/PVC	PVC	PE	PE/PVC
0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
0,5	75,7 ± 12,9	96,9 ± 1,6	81,4 ± 10,0	22,5 ± 12,5	97,9 ± 2,1	96,9 ± 1,6
1	98,3 ± 4,9	100,9 ± 1,3	95,9 ± 4,7	26,8 ± 19,7	98,6 ± 1,6	98,2 ± 1,3
2	100,3 ± 2,2	100,7 ± 1,0	100,5 ± 4,0	41,1 ± 24,8	98,7 ± 1,6	98,6 ± 1,1
3	100,0 ± 2,8	100,2 ± 1,3	100,2 ± 3,8	45,2 ± 28,7	98,6 ± 1,6	98,4 ± 1,2
4	99,5 ± 1,8	100,2 ± 0,8	99,7 ± 2,9	48,7 ± 26,6	98,5 ± 1,6	98,7 ± 1,0
5	99,3 ± 2,6	99,2 ± 1,4	99,5 ± 3,3	50,5 ± 26,7	98,3 ± 1,6	98,5 ± 1,1
6	99,7 ± 2,9	99,6 ± 0,9	98,2 ± 2,3	52,4 ± 26,7	98,3 ± 2,0	98,7 ± 0,8
7	99,1 ± 2,4	99,8 ± 0,6	98,1 ± 2,9	53,7 ± 26,5	98,3 ± 1,7	98,3 ± 1,3
8	99,4 ± 2,4	99,6 ± 1,0	98,4 ± 3,2	55,4 ± 26,6	97,9 ± 1,7	98,5 ± 1,1
24	98,1 ± 2,3	97,6 ± 2,3	99,1 ± 3,8	64,0 ± 18,3	95,1 ± 1,8	96,5 ± 1,2

Tableau 34 : Pourcentages d'insuline humaine et de métacrésol recueillis avec les prolongateurs en PVC, PE et PE/PVC au cours d'une perfusion de 24 heures (n=3).

Tableau 35 : Pourcentages d'insuline aspartate, de phénol et de métacrésol recueillis avec les prolongateurs en PVC, PE et PE/PVC au cours d'une perfusion de 24 heures (n = 3).

Temps (heures)	Insuline aspartate			Phénol		
	PVC	PE	PE/PVC	PVC	PE	PE/PVC
0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
0,5	91,2 ± 4,6	89,2 ± 5,3	92,8 ± 5,1	63,3 ± 19,6	99,5 ± 0,5	99,9 ± 0,1
1	94,9 ± 3,9	98,3 ± 2,4	95,4 ± 5,1	54,1 ± 16,2	99,2 ± 0,5	99,7 ± 0,4
2	97,1 ± 2,8	99,2 ± 1,2	98,0 ± 2,7	62,8 ± 13,4	99,4 ± 0,6	99,8 ± 0,5
3	98,5 ± 0,9	99,7 ± 1,8	99,0 ± 1,6	64,2 ± 16,4	99,4 ± 0,5	99,7 ± 0,5
4	99,2 ± 1,0	99,9 ± 1,6	99,2 ± 1,8	66,8 ± 16,8	99,5 ± 0,4	99,6 ± 0,4
5	98,7 ± 2,0	98,9 ± 1,6	99,9 ± 0,9	68,9 ± 16,5	99,5 ± 0,3	99,4 ± 0,3
6	99,2 ± 2,7	99,3 ± 1,2	99,5 ± 1,5	71,4 ± 16,8	99,3 ± 0,7	99,3 ± 0,3
7	98,7 ± 2,2	98,5 ± 2,4	99,3 ± 1,4	73,2 ± 16,0	99,4 ± 0,4	99,2 ± 0,4
8	98,6 ± 2,0	99,2 ± 1,7	99,4 ± 1,4	72,4 ± 16,5	99,4 ± 0,5	99,2 ± 0,4
24	98,6 ± 1,2	99,9 ± 1,6	99,7 ± 0,8	82,5 ± 10,3	98,6 ± 0,8	98,4 ± 1,0

Tableau 36 : Angles de contact (°) du PVC-TOTM NT et fonctionnalisés à J0 et J7 (n=9).

	J0 (°)	J7 (°)
NT	110,2 ± 5,8	114,0 ± 4,5
PDA seule	58,1 ± 2,6	70,4 ± 1,2
P1	71,5 ± 5,1	76,1 ± 1,3
P2	73,2 ± 2,0	78,0 ± 4,2
P3	73,0 ± 7,9	81,4 ± 4,4
P1 + PDA	65,0 ± 3,3	83,3 ± 3,3
P2 + PDA	62,3 ± 8,0	65,3 ± 3,7
P3 + PDA	60,8 ± 1,8	76,0 ± 10,5
P1 + PDA + R	73,8 ± 3,2	88,3 ± 5,8
P2 + PDA + R	89,5 ± 1,5	89,5 ± 1,4
P3 + PDA + R	84,6 ± 6,3	93,9 ± 3,8
P1 + PDA + P1	66,0 ± 3,4	92,4 ± 3,3
P2 + PDA + P2	69,0 ± 6,0	88,7 ± 1,7
P3 + PDA + P3	72,3 ± 8,0	95,1 ± 2,2

P : plasma froid, P1 = 180 secondes et 100 SCCM, P2 = 60 secondes et 850 SCCM, P3 = 60 secondes et 500 SCCM. PDA = polydopamine. R = recuit (140°C pendant 1 heure).

Tableau 37 : Angles de contact (°) du PVC-DINCH NT et fonctionnalisés à J0 et J7 (n=9).

	J0 (°)	J7 (°)
NT	96,7 ± 3,6	97,7 ± 3,8
PDA seule	62,4 ± 1,8	72,6 ± 3,4
P1	59,1 ± 1,0	66,7 ± 4,0
P2	55,6 ± 0,7	68,1 ± 4,4
P3	65,5 ± 4,6	78,1 ± 3,8
P1 + PDA	67,8 ± 2,6	82,1 ± 1,9
P2 + PDA	64,6 ± 4,6	82,4 ± 1,7
P3 + PDA	77,9 ± 5,2	83,5 ± 2,4
P1 + PDA + R	84,4 ± 4,7	95,4 ± 4,3
P2 + PDA + R	94,6 ± 6,4	93,4 ± 3,9
P3 + PDA + R	84,7 ± 2,4	94,0 ± 2,5
P1 + PDA + P1	89,1 ± 3,9	88,8 ± 1,7
P2 + PDA + P2	94,2 ± 2,1	91,3 ± 1,6
P3 + PDA + P3	95,0 ± 3,3	94,4 ± 2,0

P : plasma froid, P1 = 180 secondes et 100 SCCM, P2 = 60 secondes et 850 SCCM, P3 = 60 secondes et 500 SCCM. PDA = polydopamine. R = recuit (140°C pendant 1 heure).

Tableau 38 : Viabilité cellulaire (%) des échantillons testés (n=9).

	TOTM	DINCH
Tubulure NT	100 ± 1	95 ± 2
Disque NT	75 ± 5	91 ± 2
P2+PDA	69 ± 2	78 ± 3
P2+PDA+R	67 ± 2	85 ± 2
P2+PDA+P2	65 ± 3	94 ± 3

P : plasma froid, P1 = 180 secondes et 100 SCCM, P2 = 60 secondes et 850 SCCM, P3 = 60 secondes et 500 SCCM. PDA = polydopamine. R = recuit (140°C pendant 1 heure).

Tableau 39 : Valeurs du pourcentage de DZP adsorbé sur le PVC-TOTM NT et fonctionnalisés (n=10).

	J1	J2	J3	J6	J7
NT	6,3 ± 0,9	11,4 ± 1,1	15,0 ± 1,1	22,5 ± 0,9	25,0 ± 0,8
P1	9,7 ± 0,7	10,1 ± 0,7	13,2 ± 1,1	18,5 ± 1,7	19,6 ± 1,8
P2	10,8 ± 0,4	9,7 ± 0,5	12,3 ± 0,7	18,2 ± 1,6	19,3 ± 1,8
P3	11,2 ± 0,1	10,7 ± 1,2	13,2 ± 1,3	19,3 ± 1,6	19,4 ± 1,8
P1 + PDA	6,8 ± 1,0	7,3 ± 2,7	10,7 ± 2,9	18,3 ± 4,0	18,6 ± 4,0
P2 + PDA	4,3 ± 0,5	5,8 ± 0,6	7,8 ± 0,8	11,9 ± 0,9	13,4 ± 1,1
P3 + PDA	5,2 ± 0,4	6,4 ± 0,8	8,8 ± 0,9	12,8 ± 1,4	14,1 ± 1,6
P1 + PDA + R	3,9 ± 0,9	6,3 ± 1,4	10,0 ± 0,9	14,8 ± 0,9	15,9 ± 0,8
P2 + PDA + R	3,6 ± 0,8	6,7 ± 0,7	10,1 ± 0,6	15,0 ± 0,8	16,2 ± 1,1
P3 + PDA + R	4,1 ± 0,6	7,1 ± 0,7	10,5 ± 0,6	15,3 ± 1,0	16,2 ± 1,0
P1 + PDA + P1	3,6 ± 0,3	6,3 ± 1,0	8,3 ± 1,7	11,9 ± 1,4	13,8 ± 1,6
P2 + PDA + P2	3,6 ± 0,4	6,5 ± 0,5	10,4 ± 0,8	11,7 ± 1,1	13,3 ± 1,1
P3 + PDA + P3	4,1 ± 0,5	7,0 ± 0,8	9,4 ± 0,6	12,8 ± 1,8	13,5 ± 2,1

P : plasma froid, P1 = 180 secondes et 100 SCCM, P2 = 60 secondes et 850 SCCM, P3 = 60 secondes et 500 SCCM. PDA = polydopamine. R = recuit (140°C pendant 1 heure).

Tableau 40 : Valeurs du pourcentage de DZP adsorbé sur les PVC-DINCH NT et fonctionnalisés (n=10).

Jour	1	2	3	6	7
NT	6,2 ± 0,3	10,3 ± 0,6	13,1 ± 0,9	18,7 ± 1,3	23,7 ± 1,8
P1	5,9 ± 0,2	10,4 ± 0,9	13,2 ± 1,0	19 ± 1,0	22,9 ± 1,1
P2	6,1 ± 0,2	10,6 ± 0,8	13,2 ± 0,9	18,6 ± 0,9	23,7 ± 1,4
P3	4,8 ± 0,5	10,7 ± 1,0	12,0 ± 1,6	18,2 ± 1,8	23,0 ± 2,2
P1 + PDA	5,8 ± 0,8	9,5 ± 1,0	12,7 ± 1,6	18,2 ± 2,0	18,8 ± 2,8
P2 + PDA	6,1 ± 0,4	9,2 ± 0,9	12,3 ± 1,0	17,9 ± 1,3	17,9 ± 1,1
P3 + PDA	5,7 ± 0,5	9,1 ± 0,7	12,2 ± 1,1	17,7 ± 1,4	19,4 ± 1,1
P1 + PDA + R	3,3 ± 0,8	6,4 ± 1,0	9,3 ± 1,3	15,0 ± 1,2	16,0 ± 2,0
P2 + PDA + R	2,4 ± 0,7	5,9 ± 0,9	9,3 ± 0,9	14,5 ± 1,1	14,8 ± 1,3
P3 + PDA + R	1,9 ± 0,4	6,0 ± 1,2	9,4 ± 0,8	14,4 ± 1,9	16,9 ± 1,1
P1 + PDA + P1	4,4 ± 0,5	8,2 ± 0,9	11,7 ± 0,9	17,5 ± 1,2	20,2 ± 1,2
P2 + PDA + P2	3,9 ± 0,2	7,6 ± 0,6	11,2 ± 0,5	17,4 ± 1,0	19,7 ± 0,9
P3 + PDA + P3	4,2 ± 0,3	7,8 ± 0,9	11,5 ± 0,8	17,4 ± 0,9	18,9 ± 1,4

P : plasma froid, P1 = 180 secondes et 100 SCCM, P2 = 60 secondes et 850 SCCM, P3 = 60 secondes et 500 SCCM. PDA = polydopamine. R = recuit (140°C pendant 1 heure).

Tableau 41 : Valeurs du pourcentage de TOTM ayant migré à partir du PVC-TOTM NT et des PVC fonctionnalisés (n = 10 pour le PVC NT, n = 5 pour le PVC fonctionnalisé).

	24 heures	72 heures
NT	0,035 ± 0,008	0,054 ± 0,005
P1	0,037 ± 0,004	0,058 ± 0,010
P2	0,024 ± 0,002	0,055 ± 0,006
P3	0,026 ± 0,005	0,051 ± 0,003
P1 + PDA	0,027 ± 0,003	0,045 ± 0,008
P2 + PDA	0,027 ± 0,005	0,044 ± 0,007
P3 + PDA	0,027 ± 0,003	0,052 ± 0,002
P1 + PDA + R	0,014 ± 0,005	0,017 ± 0,004
P2 + PDA + R	0,011 ± 0,001	0,015 ± 0,002
P3 + PDA + R	0,015 ± 0,002	0,021 ± 0,004
P1 + PDA + P1	0,017 ± 0,001	0,021 ± 0,003
P2 + PDA + P2	0,012 ± 0,001	0,024 ± 0,007
P3 + PDA + P3	0,026 ± 0,004	0,022 ± 0,004

P : plasma froid, P1 = 180 secondes et 100 SCCM, P2 = 60 secondes et 850 SCCM, P3 = 60 secondes et 500 SCCM. PDA = polydopamine. R = recuit (140°C pendant 1 heure).

Tableau 42 : Valeurs du pourcentage de DINCH ayant migré à partir du PVC-DINCH NT et des PVC fonctionnalisés (n = 10 pour le PVC NT, n = 5 pour le PVC fonctionnalisé).

	24 heures	72 heures
NT	2,70 ± 0,23	3,01 ± 0,31
P1	2,02 ± 0,06	2,82 ± 0,34
P2	2,44 ± 0,24	3,32 ± 0,63
P3	2,45 ± 0,18	2,91 ± 0,38
P1 + PDA	2,08 ± 0,26	2,47 ± 0,28
P2 + PDA	1,88 ± 0,24	2,52 ± 0,21
P3 + PDA	2,29 ± 0,07	2,28 ± 0,04
P1 + PDA + R	1,84 ± 0,09	3,41 ± 0,03
P2 + PDA + R	2,42 ± 0,71	2,89 ± 0,31
P3 + PDA + R	1,90 ± 0,13	3,99 ± 0,60
P1 + PDA + P1	1,72 ± 0,15	1,97 ± 0,27
P2 + PDA + P2	1,65 ± 0,29	1,89 ± 0,38
P3 + PDA + P3	1,62 ± 0,68	1,76 ± 0,18

P : plasma froid, P1 = 180 secondes et 100 SCCM, P2 = 60 secondes et 850 SCCM, P3 = 60 secondes et 500 SCCM. PDA = polydopamine. R = recuit (140°C pendant 1 heure).

Publications et travaux personnels issus de la thèse

Publications internationales

- « Analysis of plasticizers in PVC medical devices: Performance comparison of eight analytical methods ».
Bernard L, Bourdeaux D, Pereira B, Azaroual N, Barthélémy C, Breyse C, Chennell P, Cueff R, Dine T, Eljezi T, Feutry F, Genay S, Kambia N, Lecoœur M, Masse M, Odou P, Radaniel T, Simon N, Vaccher C, Verlhac C, Yessad M, Décaudin B, Sautou V.
Talanta. 2017 Jan 1;162:604-611. doi: 10.1016/j.talanta.2016.10.033. Epub 2016 Oct 18.
- « 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.
Talanta. 2017 Jan 1;162:187-192. doi: 10.1016/j.talanta.2016.10.029. Epub 2016 Oct 4.
- « Identification and quantification by ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy of seven plasticizers in PVC medical devices ».
S. Genay, F. Feutry, M. Masse, C. Barthélémy, V. Sautou, P. Odou, B. Décaudin, N. Azaroual; ARMED Study Group.
Anal Bioanal Chem. 2017 Feb;409(5):1271-1280. doi: 10.1007/s00216-016-0053-4. Epub 2016 Nov 7.
- « In vitro assessment of the influence of intravenous extension set materials on insulin aspart drug delivery ».
M. Masse, M. Maton, S. Genay, N. Blanchemain, C. Barthélémy, B. Décaudin, P. Odou.
PLoS One. 2018 Aug 16;13(8):e0201623. doi: 10.1371/journal.pone.0201623. eCollection 2018.

Communication orale internationale

- « Which material required to infuse insulin? »
M. Masse, S. Genay, A. Domi, C. Barthélémy, B. Décaudin, P. Odou.
International symposium on infusion technologies 9th-10th November 2016 at Lille (France).

Communication orale nationale

- « Quel matériau faut-il privilégier pour perfuser l'insuline ? »
M. Masse, S. Genay, A. Domi, C. Barthélémy, B. Décaudin P. Odou.
26^{ème} congrès Europharmat du 11 au 13 Octobre 2016 à Bordeaux (France).

Communications internationales affichées

- « Use of UV - spectrum derivative chromatography method to solve coelution between two plasticizers ».
M. Masse, S. Genay, F. Feutry, N. Simon, V. Sautou, C. Barthélémy, B. Décaudin, P. Odou for the ARMED study group.
XVIII^{ème} congrès Euroanalysis du 6 au 10 Septembre 2015 à Bordeaux.
- « How to reduce migration of plasticizers contained in medical devices in polyvinyl chloride? »
M. Masse, A. Pettinari, S. Genay, M. Jimenez, C. Barthélémy, B. Décaudin, N. Blanchemain, P. Odou.
2nd International Infusion Symposium on infusion technologies. A Lille, le 5 et 6 juillet 2018.

Communications nationales affichées

- « 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 ».
M. Masse, S. Genay, F. Feutry, C. Barthélémy, N. Simon, V. Sautou, B. Décaudin, P. Odou for the ARMED study group.
16^{ème} édition de la journée André Verbert, le 5 Septembre 2016 à Lille.
- « Réduction des interactions médicamenteuses avec les dispositifs médicaux en PVC : Application au diazépam ».
M. Masse, S. Genay, M. Jimenez, C. Barthélémy, B. Décaudin, N. Blanchemain, P. Odou. Première journée de la recherche de la Faculté de Pharmacie de Lille.
A Lille, le 10 juillet 2017.

- « Comment limiter la sorption des principes actifs avec le polychlorure de vinyle? »

M. Masse, A. Pettinari, S. Genay, M. Jimenez, C. Barthélémy, B. Décaudin, N. Blanchemain, P. Odou.

Deuxième journée de la Recherche de la Faculté de Pharmacie de Lille. A Lille, 11 juillet 2018.

Études des interactions contenu – contenant avec le polychlorure de vinyle et développement de méthodes de prévention de ces interactions

Résumé : Le polychlorure de vinyle (PVC) est un matériau très utilisé dans la fabrication des dispositifs médicaux (DMs) tels que les prolongateurs et les tubulures de perfusion. Cependant, le PVC est sujet à 2 types d'interactions contenu-contenant. La première est la sorption pouvant conduire à un sous-dosage médicamenteux puisque la dose de principe actif ne sera pas totalement administrée, ou conduire à une modification de la formulation galénique du médicament (en cas de sorption des excipients). La deuxième interaction est la migration des plastifiants. Les fabricants ajoutent au PVC des plastifiants pour l'assouplir, ils peuvent être présents jusqu'à 40-50% masse/masse. Certains des plastifiants sont actuellement considérés comme des molécules carcinogènes, mutagènes et reprotoxiques de classe 1b. Toutefois, ces plastifiants n'étant pas liés de façon covalente avec le PVC, ceux-ci peuvent migrer et entrer en contact avec le patient.

Les objectifs de cette thèse sont :

1. De mettre en évidence les phénomènes de sorption avec le PVC au travers de deux solutions commerciales d'insuline : l'Umuline rapide® (insuline humaine) et la Novorapid® (insuline asparte).
2. D'optimiser une méthode de dosage permettant la caractérisation des sept plastifiants utilisés dans la fabrication des DMs en PVC grâce à l'utilisation de la dérivée première des spectres UV et d'appliquer cette méthode à des DMs commercialisés.
3. De mettre au point un procédé de modification (fonctionnalisation) de la surface du PVC pour limiter ces interactions contenu-contenant. L'idée est de créer une barrière à l'extrême surface (de quelques nanomètres) sans modifier les propriétés en profondeur du PVC et de limiter la sorption des principes actifs (le diazépam, DZP) et la migration des plastifiants. Deux plastifiants sont étudiés, le 1,2-cyclohexane dicarboxylic acid diisononyl ester (DINCH) et le tri-octyltrimellitate (TOTM) qui sont les plastifiants les plus retrouvés dans ces DMs en PVC.

Les deux insulines (asparte - Novorapid® et humaine - Umuline rapide®) présentent une interaction, lors de la première heure de perfusion, avec le PVC. Après 30 minutes de perfusion, le pourcentage d'insuline humaine recueillie est de $75,7 \pm 12,9\%$ et celui d'insuline asparte de $91,2 \pm 4,6\%$. En revanche, les conservateurs qui permettent le maintien de l'insuline sous sa conformation la plus stable (forme hexamérique) sont beaucoup plus sujets à la sorption avec le PVC. Pour l'insuline Novorapid® le pourcentage de perte de métacrésol est de $50,3 \pm 12,1\%$ et celui du phénol est de $39,7 \pm 19,6\%$ après trente minutes de perfusion. Concernant l'insuline Umuline rapide®, le pourcentage de perte du métacrésol est de $77,5 \pm 12,5\%$.

La méthode de dosage des plastifiants permet la qualification et la quantification des sept plastifiants utilisés dans la fabrication des DMs en PVC. La quantification des plastifiants est comprise entre 0,3 à 750 µg/mL selon le plastifiant. Les gammes d'étalonnage des plastifiants sont validées par une analyse de la variance. Cette méthode est ensuite utilisée pour le dosage des plastifiants contenus dans des DMs en PVC commercialisés et pour les études de migration.

La fonctionnalisation repose sur différentes combinaisons associant un pré-traitement au plasma froid basse pression d'argon, suivi d'un revêtement de polydopamine et d'un post-traitement thermique (désigné sous le terme de « recuit ») ou par plasma. Dans le cas du PVC plastifié au DINCH, le post-traitement avec du plasma permet de réduire d'environ 20% la

sorption du DZP et de 40% la migration de ce plastifiant. Pour le TOTM, la fonctionnalisation associant un recuit comme dernière fonctionnalisation permet de réduire d'environ 40% la sorption du DZP et de plus de 60% la migration de ce plastifiant.

Mots clés : polychlorure de vinyle, plastifiants, interactions contenu-contenant, fonctionnalisation, plasma froid basse pression, polydopamine

Studies of content-container interactions with polyvinyl chloride and development of methods to prevent these interactions

Polyvinyl chloride (PVC) is a material that is widely used in the manufacture of medical devices (MDs) such as extension tubes and infusion tubing. However, PVC is subject to 2 types of content-container interactions. The first one is called sorption and can lead to underdosage since the dose of drug will not be fully administered, or to change the drug formulation (in case of sorption of excipients). The second interaction concerns the migration of plasticizers. Manufacturers add PVC plasticizers which can be present up to 40-50% mass/mass to soften. Some plasticizers are currently considered class 1b carcinogenic, mutagenic and reprotoxic molecules. However, these plasticizers are not covalently bonded with the PVC, thus they can migrate and come into contact with the patient. The objectives of this thesis are: 1) To highlight the phenomena of sorption with PVC through two commercial solutions of insulin: Umuline rapide® (human insulin) and Novorapid® (insulin aspart). 2) To optimize an assay method allowing the characterization of the seven plasticizers employed in the manufacture of PVC MDs by using the first derivative of the UV spectra in order to apply this method to commercialize MDs. 3) To develop a method of modification (functionalization) of the PVC surface to limit these content-container interactions. The idea is to create a barrier at the extreme surface (of a few nanometers) without modifying the deep properties of PVC and to reduce the sorption of drug (diazepam, DZP) and the migration of plasticizers. Two plasticizers were studied, the 1,2-cyclohexane dicarboxylic acid diisononyl ester (DINCH) and the tri-octyltrimellitate (TOTM) which are the plasticizers most currently found in these PVC MDs. Both insulins (aspart - Novorapid® and human – Umuline rapide®) had an interaction, during the first hour of infusion, with PVC. After 30 minutes of infusion, the percentage of human insulin and insulin aspart collected are respectively of $75.7 \pm 12.9\%$ and $91.2 \pm 4.6\%$. However, preservatives that allow the maintenance of insulin in its most stable conformation (hexameric form) are much more sensitive to sorption with PVC. For Novorapid® insulin, the percentage of loss of metacresol is $50.3 \pm 12.1\%$ and $39.7 \pm 19.6\%$ for phenol is after thirty minutes of infusion. For Umuline rapide® insulin, the percentage of loss of metacresol is $77.5 \pm 12.5\%$. These percentages of loss decrease during the 24 hours infusion.

The plasticizer dosing method allows the qualification and quantification of the seven plasticizers used in the manufacture of PVC MDs. The quantification of plasticizers is between 0.3 and 750 µg/mL, depending on the plasticizer. The calibration ranges of plasticizers are validated by an analysis of the variance. This method is then used for the determination of plasticizers contained in commercial MDs and also for migration studies.

The functionalization is based on different combinations with a low pressure argon cold plasma pretreatment, followed by a polydopamine coating and a thermal or plasma post-treatment. In the case of PVC plasticized with DINCH, post-treatment with plasma reduced by approximately 20% the DZP sorption and by 40% the migration of this plasticizer. For the

TOTM, functionalization associating a thermal post-treatment as last functionalization reduced by approximately 40% DZP sorption and by more than 60% the migration of this plasticizer.

Key words: polyvinyl chloride, plasticizers, content-container interactions, functionalization, low-pressure cold plasma, polydopamine.