



TRANSFUSION INTERREGIONALE CRS
INTERREGIONALE BLUTSPENDE SRK



Unil
UNIL | Université de Lausanne

La présence de DEHP dans les poches de sang est-il un problème de santé publique?

Etudiant

Länzlinger Yoann

Tuteur

Prudent Michel, Privat-docent, Dr ès Sc.

Expert

Leuenberger Nicolas, Privat-docent, Dr ès Sc.

Lausanne, 15.02.2018

Remerciements

J'aimerais d'abord exprimer mes sincères remerciements à Monsieur Michel Prudent qui a repris le flambeau du tutorat de ce travail en cours de route et m'a fourni une aide précieuse quant à sa réalisation. Lors de nos entrevues toujours riches en partage, il a su me motiver à persévérer dans mes efforts. Sans lui, ce travail n'aurait pas abouti et je suis très reconnaissant d'avoir pu travailler à ses côtés.

Je remercie également Monsieur Niels Lion qui a initié le tutorat sans malheureusement pouvoir poursuivre l'aventure à mes côtés. Je lui adresse de chaleureux remerciements pour avoir partagé son savoir et pour avoir donné l'impulsion sans laquelle ce travail n'aurait jamais commencé.

Merci aussi à mon frère Tony Länzlinger pour les corrections toujours pleines de justesse et ses commentaires intelligents qui ont su me guider.

Pour finir, je voulais remercier ma famille et mes proches pour leur soutien tout au long de ce travail de master.

Abstract

Les phtalates sont les plastifiants les plus répandus dans le monde et ont été utilisés dans le domaine médical depuis 1955. Le phtalate de diéthylhexyle (DEHP) est présent dans de nombreux composés industriels et produits domestiques et est également utilisé dans le domaine médical comme plastifiant, notamment dans les poches de sang et les tubulures des dispositifs d'aphérèse. Des préoccupations liées à l'exposition de la population à cette substance existent depuis longtemps puisque le DEHP est possiblement carcinogène chez les humains et est suspecté d'altérer le développement des organes génitaux des garçons et d'affecter la fertilité humaine entre autre. C'est pour ces raisons qu'il est classé comme toxique pour la reproduction de catégorie 1B en Suisse. En médecine transfusionnelle, le DEHP migre dans le sang des poches de sang lors de leur stockage et se retrouve chez le transfusé, tandis que lors d'une procédure de thrombaphérèse, le sang se charge du DEHP des tubulures dans lequel il passe, avant de retourner au donneur. Ces deux situations exposent les individus à des quantités de DEHP non négligeables et il convient dès lors de caractériser cette exposition.

En se basant sur la littérature existante et en effectuant des estimations théoriques, ce travail s'attache donc à évaluer les doses de DEHP auxquelles sont soumis les nouveaux-nés et les enfants en bas âge lors de transfusions de concentrés érythrocytaires et des adultes sains réalisant un don de plaquettes par aphaérèse.

Les résultats de ce travail ont montré que dans le cas d'une transfusion sanguine, un nouveau-né de 3.5 kg recevrait entre 163 et 1256 μg de DEHP alors que les seuils autorisés dans son cas sont de 70 $\mu\text{g}/\text{j}$ (20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ pour les enfants de moins de 3 mois) et un enfant de 5 ans et de 18 kg recevrait entre 841 et 6'458 μg de DEHP pour des seuils autorisés de 900 $\mu\text{g}/\text{j}$ (50 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ à partir de 5 ans). Les doses d'exposition sont donc importantes et dépassent les seuils autorisés dans certains cas ce qui plaide en faveur d'une prise de mesure pour réduire l'exposition des enfants nécessitant des transfusions régulières.

Dans le cas de la thrombaphérèse, un donneur serait exposé en moyenne à environ 451 μg de DEHP. Cette dose est relativement faible puisque le seuil autorisé pour un homme de 70 kg est de 3'500 $\mu\text{g}/\text{j}$ (50 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$). Ainsi, même en suivant les recommandations officielles qui sont d'effectuer au maximum une thrombaphérèse chaque 6 semaines, un donneur de plaquettes ne s'exposerait pas à des quantités excessives de DEHP qui pourrait avoir un impact clinique sur sa santé.

Ce travail met donc en lumière l'existence de populations à risque de développer des signes cliniques liés à une exposition massive de DEHP notamment dans le cadre transfusionnel, les individus les plus à risque dans le domaine médical étant probablement les patients pédiatriques. Sachant qu'il existe des procédures médicales qui exposent les patients à des doses de DEHP encore plus importantes que celle mentionnées, il est important de protéger ces populations des surexpositions au DEHP en trouvant des alternatives aux mesures actuelles.

Liste des abréviations

ACD	Anticoagulant Citrate Dextrose
CE	Concentré érythrocytaire
CPD	Citrate Phosphate Dextrose
DEHP	Di-(2-ethylhexyl) phthalate
LD₅₀	Dose létale médiane
MBP	Mono-n-butyl phthalate
MEHP	Mono-(2-ethylhexyl) phthalate
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level
OChim	Ordonnance sur les produits chimiques
OFSP	Office fédéral de la santé publique
ORRChim	Ordonnance sur la réduction des risques liés aux produits chimiques
PPAR	Récepteur activé par les proliférateurs de péroxysomes
PSL	Produits sanguins labiles
PVC	Polychlorure de vinyle
TDI	Dose journalière tolérable (Tolerable Daily Intake)
TIR	Transfusion interrégionale

Table des matières

1. INTRODUCTION	5
2. PROBLEMATIQUE	6
3. LES PHTALATES	7
3.1. QU'EST-CE QUE LES PHTALATES ?.....	7
3.2. PRODUCTION	7
3.3. UTILISATIONS.....	7
3.4. PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES	8
3.5. EXPOSITION	8
a. Le cas particulier de l'exposition médicale.....	9
b. Le cas particulier des fœtus et des nouveau-nés.....	10
4. REGLEMENTATION	10
5. TOXICOLOGIE	11
5.1. TOXICOCINÉTIQUE	11
5.2. TOXICODYNAMIQUE ANIMALE	12
a. Génotoxicité.....	13
b. Carcinogénicité.....	13
c. Immunotoxicité.....	14
d. Reprotoxicité.....	15
5.3. TOXICODYNAMIQUE HUMAINE.....	17
6. ETUDE DE CAS	19
6.1. TRANSFUSION SANGUINE.....	19
a. Préparation d'un concentré érythrocytaire	19
b. Estimation de la quantité de DEHP dans un concentré érythrocytaire	19
6.2. THROMBAPHÉRÈSE.....	20
a. Préparation d'un concentré plaquettaire par thrombaphérèse.....	20
b. Estimation de la quantité de DEHP relarguée lors d'une procédure de thrombaphérèse	21
7. RESULTATS	21
7.1. TRANSFUSION SANGUINE.....	21
a. Cas de transfusions chronique en pédiatrie	23
7.2. THROMBAPHÉRÈSE.....	24
a. Cas de donneur de plaquettes par aphérèse	24
8. DISCUSSION	25
8.1. HYPOTHÈSES DE TRAVAIL	25
8.2. RÉSULTATS DE LA TRANSFUSION SANGUINE	26
8.3. RÉSULTATS DE LA THROMBAPHÉRÈSE	27
8.4. TOXICOLOGIE.....	27
8.5. ALTERNATIVES AU DEHP	28
9. CONCLUSION	28
10. REFERENCES	29

1. INTRODUCTION

Depuis les années 70, les produits sanguins labiles (PSL) sont collectés, préparés et conservés dans des poches en plastique. Le plastique le plus couramment utilisé à cette fin est le PVC, dont la mise en forme nécessite l'adjonction de plastifiants, typiquement le phtalate de di-2-éthylhexyle (DEHP). Cette molécule n'étant pas liée à la matrice polymère de PVC, elle est relarguée dans le contenu des poches, à savoir dans les PSL destinés aux patients, ou bien dans le sang restitué aux donneurs lors de procédures d'aphérèse (Jaeger et Rubin, 1972). La présence de cette molécule dans les produits sanguins, bien que connue depuis les années 70, pose un problème médical, car le DEHP est un perturbateur endocrinien classifié comme toxique pour la reproduction de catégorie 1B en Suisse¹ (Ordonnance sur les produits chimiques) et au niveau européen (règlement REACH), susceptible de poser notamment des problèmes de développement sexuel chez les enfants mâles. Chez l'animal, il présente également une toxicité rénale et hépatique en plus de générer des altérations du tractus reproducteur avec une inhibition des fonctions de stéroïdogénèse et de gamétogénèse chez le mâle (Anses, 2012).

La réglementation européenne cherche à éliminer les phtalates depuis plusieurs années, d'abord des objets courants destinés aux enfants en 2005 (directive EU 2005/84/EC), puis, en 2015, de l'ensemble des biens de consommation courante, à l'exception des produits médicaux (Directive EU 2015/863). Certains pays sont même allés au-delà des réglementations européennes, comme la France qui a décidé l'interdiction de l'utilisation de plastiques contenant des phtalates dans le matériel médical destiné aux services de maternité, néonatalogie et pédiatrie (loi n° 2012-1442).

Les alternatives pour remplacer le DEHP existent mais la situation en transfusion est compliquée par le fait que la présence de DEHP dans les poches de concentrés érythrocytaires (CE) stabilise la membrane des globules rouges et permet un meilleur stockage de ces derniers (Samson et Korte, 2011). Actuellement, malgré de nombreux efforts de la part des banques de sang et des fabricants, aucune solution technique adéquate n'existe : si des poches fabriquées avec d'autres plastiques se trouvent, elles sont peu répandues, et pour des raisons techniques, les tubulures reliant ces poches contiennent encore largement du DEHP. Les quantités de DEHP pouvant être relarguées depuis ces tubulures lors de transfert de sang d'une poche à l'autre ne sont pas connues. En outre, le DEHP aurait la propriété d'allonger la durée de conservation des globules rouges et son abandon dans les poches de stockage des CE pourrait amener à remettre en cause la durée actuelle de stockage des globules rouges (entre 42 et 49 jours en fonction de la solution additive utilisée), ce qui mettrait en péril l'approvisionnement en globules rouges. Enfin, pour des raisons techniques de production industrielle, il est très difficile de changer le plastique des kits de collecte par aphaérèse.

Chaque individu est exposé aux phtalates de manière quotidienne et plusieurs études se sont attachés à quantifier cette exposition (Silva et al., 2005; Wittassek et al., 2007). Heureusement, les concentrations mesurées ne sont généralement pas excessives à la législation en vigueur et le risque de toxicité aiguë est inexistant. Les dangers sur le long terme sont en revanche plus redoutés. De plus, il est maintenant établi que l'exposition médicale de DEHP peut relarguer une quantité importante de DEHP dans l'organisme, mais on connaît peu les impacts d'une telle exposition sur le développement des enfants et la santé générale des individus. Au vu des effets délétères connus du DEHP sur le développement des organes génitaux masculins, les fœtus et les enfants sont donc une population particulièrement à risque. Au sein de l'exposition médicale, les procédures d'aphérèse représentent encore un cas particulier. L'éthique médicale oblige à ne pas porter atteinte à la santé du donneur en lui rendant un sang chargé de phtalates dont les effets

¹ Une substance reprotoxique de catégorie 1B est une substance présumée toxique pour la reproduction humaine. La classification d'une substance dans la catégorie 1B s'appuie largement sur des données provenant d'études animales (www.prc.cnrs-gif.fr)

sur le long terme ne sont pas encore bien établis. Il importe dès lors d'étudier la dangerosité de cette substance au niveau de l'exposition médicale et des populations vulnérables, et si nécessaire, de trouver des alternatives aux situations qui représente un risque sanitaire. A plus large échelle, il est important d'évaluer les enjeux liés à l'exposition de la population aux multiples phtalates et de prendre des mesures pour limiter l'impact de ces derniers sur la santé.

2. PROBLEMATIQUE

C'est le 15 juin 1667 que Jean Baptiste Denis réalise la première transfusion sanguine chez l'Homme avec du sang de mouton. Dans la deuxième moitié du 20^e siècle, la progression de la technologie et des connaissances médicales ont permis de sécuriser cette pratique comportant de nombreux risques pour la santé humaine et de développer de nouvelles techniques pour répondre aux différentes situations rencontrées à l'hôpital (INTS). C'est ainsi qu'est apparu le terme de « PSL », un produit à usage thérapeutique issu du sang d'un donneur, et destiné à être transfusé à un patient. Cette dénomination compte trois types de produits : les concentrés érythrocytaires, les concentrés de plaquettes et les plasmas frais congelés. Ils peuvent être collectés par don de sang total ou par aphérèse selon les institutions. L'aphérèse consiste en une technique de prélèvement de certains composants sanguins par circulation extra-corporelle du sang. Les composés que l'on souhaite prélever sont séparés par centrifugation et extraits, tandis que les composants non prélevés sont réinjectés au donneur de sang ou au patient (aphérèse thérapeutique). Les tubulures et les poches contenant les PSL contiennent encore largement du DEHP qui est ensuite relargué chez le donneur lors de l'aphérèse. De plus, lors de la conservation des produits sanguins labiles, le DEHP, de par sa nature lipophile, migre dans la part plasmatisque du sang. Dès lors, plus longtemps il est stocké, plus le PSL contiendra du DEHP et plus l'exposition du patient sera importante.

Ainsi, ce travail vise à répondre à deux questions dans le cadre transfusionnel qui résument des situations que rencontrent régulièrement les services de néonatalogie et de pédiatrie, ainsi que les centres de dons du sang. La première d'entre elles traitera de l'exposition des enfants au DEHP dans le cadre de transfusions sanguines et des potentielles conséquences sur leur santé et leur développement. **Quels sont les impacts développementaux potentiels des enfants exposés au DEHP dans le cadre de transfusions de sang post-natales et au cours de l'enfance ?**

Afin de répondre à cette question, la dose moyenne de DEHP auquel est soumis un enfant lors d'une transfusion sanguine sera évaluée en se basant sur la littérature et en réalisant des calculs théoriques à partir du matériel utilisé à Transfusion Interrégionale (TIR²) d'Epalinges. Le cas d'un enfant nécessitant des transfusions de sang régulières dans le cadre, par exemple, d'une maladie du sang comme la thalassémie majeure ou la drépanocytose sera discuté comme exemple et les dangers de cette exposition seront évalués. Les éventuelles solutions techniques pour réduire leur exposition (poches de sang sans DEHP) et les difficultés rencontrées dans leur mise en pratique seront également abordées à la fin du travail.

La deuxième question concernera l'exposition au DEHP d'adultes sains lors de dons par aphérèse. **Quels sont les impacts potentiels du relargage de DEHP lors de dons réguliers par thrombaphérèse sur la santé d'adultes sains?**

En s'aidant des données de la littérature, une approximation de la quantité de DEHP que reçoit un patient lors d'une procédure de thrombaphérèse sera réalisée et ces valeurs seront comparées avec les seuils autorisés. A nouveau, des scénarios « extrêmes » seront présentés afin d'évaluer si cette exposition peut représenter un danger chez certains individus.

²Transfusion interrégionale CRS, Centre de prélèvements d'Epalinges, Biopôle, bâtiment SC-B, Route de la Corniche 2, 1066 Epalinges.

3. LES PHTALATES

Ce chapitre détaille les caractéristiques des phtalates, les multiples utilisations du DEHP et les modalités de son exposition.

3.1. Qu'est-ce que les phtalates ?

Produits pour la première fois dans les années 1920, ils ont connu un essor important dans les années 1950, lorsque le PVC (chlorure de polyvinyle) est apparu. Les phtalates sont en effet très majoritairement utilisés en tant que plastifiants pour rendre le PVC souple et flexible ; ce sont d'ailleurs les plastifiants les plus communément utilisés dans le monde (Graham, 1973). Ils font partie d'une famille de produits chimiques constitués d'un anneau benzénique et de deux groupements esters générant une structure de type diester. Ils sont également retrouvés sous la dénomination d'« esters phtaliques » car produits à partir d'une réaction entre un acide phtalique et un alcool. Ce dernier pouvant être aussi bien être un méthanol (1 atome de carbone) ou un éthanol (2 atomes de carbone) qu'un iso-décaneol (13 atomes de carbone). Ces réactions produisent donc une grande variété de phtalates, ce qui fournit une vaste gamme de propriétés physico-chimiques en vue d'utilisations différentes. L'appellation des différents phtalates va en fonction des radicaux substitués. La structure des phtalates est représentée en Figure 1. Les principaux représentants sont détaillés dans le tableau 1 (OFSP, les phtalates, 2012).

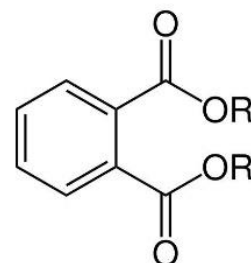


Figure 1. Formule chimique d'un phtalate. R et R' représentent les chaînes carbonées qui font la spécificité de chaque phtalates.

Tableau 1. Types de phtalates

Nom chimique	Abréviation
Phtalate de bis(2-éthylhexyle)	DEHP
Phtalate de dibutyle	DBP
Phtalate de di-isononyle	DiNP
Phtalate de diéthyle	DEP
Phtalate de bis(2-méthoxyéthyle)	DMEP
Phtalate de di-isodécyle	DiDP
Phtalate de di-n-pentyle	DnPP
Phtalate de di-n-octyle	DnOP
Phtalate de di-isopentyle	DiPP
Phtalate de di-isobutyle	DiBP
Phtalate de butylbenzyle	BBP
Phtalate de di-2-propylheptyle	DPHP

3.2. Production

En 2005, la production européenne de phtalates a été estimée à environ 1 million de tonnes. La production mondiale quant à elle est estimée à plus de 3 millions de tonnes par an (Almeras et al., 2010). Parmi cette production, le DEHP représente environ 50% de la production totale de phtalates. Les autres phtalates sont produits en moindre quantité relative.

3.3. Utilisations

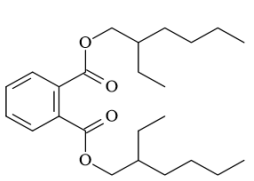
Les phtalates ont une multitude d'utilisations, mais c'est en tant que plastifiant qu'ils sont le plus utilisés, puisque plus de 90% des phtalates produits dans l'Union Européenne sont utilisés en tant que tel.

Ils ne sont jamais retrouvés seul puisqu'ils sont toujours incorporés dans un produit de consommation comme par exemple un objet en PVC. Leur proportion dans les objets varie de 1% à 40% en poids (ECB, 2008), cependant Tickner *et al.* (2001) ont rapporté que certaines tubulures de PVC dans les dispositifs médicaux pouvaient contenir jusqu'à 80% de DEHP. Les objets qui en contiennent généralement le plus sont les sacs plastiques, les emballages alimentaires, les jouets pour le bain, les dispositifs médicaux et les poches pour le stockage du sang. En plus faibles quantités, ils sont également présents dans les adhésifs, les revêtements de sol en vinyle, les huiles lubrifiantes, les condensateurs électriques, les détergents, les solvants, certains produits pharmaceutiques et certains produits cosmétiques comme les parfums, les déodorants, les shampoings et les vernis à ongles. Dans ces cas, ils permettent d'éviter que le vernis ne s'écaille, de faire tenir les parfums plus longtemps, de rendre les manches des outils plus solides et plus résistants, de renforcer ou d'augmenter l'effet des adhésifs ou des pigments de peinture et de beaucoup d'autres matériaux (Almeras, et al. 2010; Erkekoglu et Kocer-Gumusel, 2014; ECB, 2008).

3.4. Propriétés physico-chimiques

A température ambiante, les phtalates sont des liquides organiques visqueux, transparents et quasi inodores. Ils ont une forte affinité pour les graisses et les alcools lourds, par exemple les huiles végétales mais sont très peu solubles dans l'eau, leur solubilité s'étendant de 1 µg/L pour les plus lourds à quelques milligrammes par litre pour les plus légers (SCENIHR, 2016). Dans les conditions usuelles, ils n'émettent dans l'atmosphère que très peu de particules volatiles et l'exposition aux phtalates via l'inhalation de vapeurs apparaît négligeable. Toutefois, il peut avoir génération d'aérosols, en particulier lors de leur utilisation à chaud ou sous pression.

Tableau 2. Caractéristiques principales du DEHP

Nomenclature	di(2-ethylhexyl)phtalate
Formule empirique	C ₂₄ H ₃₈ O ₄
Structure moléculaire	
Poids moléculaire [g/mol]	390.6 g/mol
Point de fusion	-50°C
Point d'ébullition	385°C
Pression de vapeur	0.000034 Pa (20°C)
Solubilité dans l'eau	0.003 mg/L

3.5. Exposition

Les phtalates ne sont pas liés chimiquement aux matières plastiques, mais y sont seulement dissouts et de ce fait, peuvent s'en libérer. Ce sont des polluants environnementaux ubiquitaires car ils sont retrouvés dans l'air, les poussières, l'eau, les sols, les sédiments et la nourriture (Clark et al., 2003 ; Erythropel, et al., 2014). L'alimentation est la source principale de l'exposition au DEHP pour la population générale, et la nourriture grasse contient les plus hautes concentrations de DEHP à cause de la nature lipophile de ce dernier (Clark et al., 2003), représentant environ 90% de l'exposition (Heinemeyer et al., 2013).

La présence de DEHP dans la nourriture provient de la bioaccumulation dans certains aliments, mais également du traitement, de la manutention, du transport, de l'emballage et du stockage. Rudel *et al.* (2011) ont observé une diminution de l'exposition du DEHP lors de la consommation d'aliments sans emballages. Selon Koch *et al.* (2013), les phtalates alimentaires sont plutôt le DEHP, le DiNP et le DiDP, tandis que les phtalates de plus bas poids moléculaires sont retrouvés dans l'air et la poussière.

Les phtalates peuvent donc pénétrer le corps via leur ingestion ou leur inhalation, mais la littérature mentionne également que les phtalates pourraient également traverser la peau en cosmétologie, en quantité qui varie en fonction du solvant utilisé (Hopf *et al.*, 2014).

Quant à la voie parentérale, elle représente l'exposition la plus variable puisque des individus nécessitent de nombreuses interventions et procédures médicales qui peuvent les exposer à des hautes doses de DEHP, alors que d'autres sont préservés de cela. En effet, le DEHP migre facilement dans les solutions lipidiques comme le plasma ou les solutions d'alimentation parentérale.

Selon des calculs probabilistes réalisés à partir des concentrations retrouvées dans la nourriture et l'environnement, la fourchette d'exposition moyenne de la population générale, toutes sources d'exposition confondues a été estimée entre 1 et 30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ (Huber *et al.*, 1996; Doull *et al.*, 1999; NTP-CERHR, 2005), bien que la limite supérieure puisse être beaucoup plus haute. Ces estimations sont toutefois difficiles à cause des nombreuses sources et voies d'exposition et le DEHP étant omniprésent dans l'environnement, une contamination peut survenir aisément lors de l'analyse des données.

Une autre manière de mesurer l'exposition de la population aux phtalates est de quantifier l'excrétion des métabolites urinaires (Koch *et al.*, 2003b, Koch *et al.*, 2006). Les métabolites peuvent servir de biomarqueurs de l'exposition au DEHP couvrant toutes les sources et voies d'exposition. Toutefois, il faut prendre en compte le fait que ces métabolites ont des demi-vie très courte dans l'organisme (Preau *et al.*, 2010) et que cela peut fausser les mesures de multiples manières. Sur la base des concentrations des métabolites urinaires, des concentrations moyennes de 13.8 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ ont été mesurées dans une étude qui analysait les urines de 85 adultes. Le 95^e percentile montait jusqu'à 52.1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ ce qui dépasse également les seuils autorisés par les autorités.

En pédiatrie, Wittassek *et al.* (2007) ont estimé l'exposition de 239 enfants âgés de 2 à 14 ans par extrapolation des métabolites urinaires également. En appliquant un modèle basé sur le volume urinaire ou sur la créatinine, ils ont estimé respectivement une dose moyenne journalière de 7.8 ou 4.3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ de DEHP avec un 95^e percentile à 25.2 ou 15.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ respectivement. Trois enfants de l'étude dépassaient le seuil autorisé de 50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ et 7.5% ou 3% (dépendamment de l'estimation) dépassait la dose de référence de 20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ de l'European Chemical Bureau. De manière générale, le temps d'exposition est plus long chez les enfants parce qu'ils absorbent une plus grande quantité d'aliments que les adultes par rapport à leur poids corporel et parce qu'ils portent des objets en plastique à la bouche (Becker *et al.*, 2004)

a. Le cas particulier de l'exposition médicale

Certains traitements médicaux exposent les patients au DEHP, à des doses qui peuvent être largement supérieures à l'exposition habituelle de la population générale. Du fait de la nature du traitement, cette exposition peut être de courte ou de longue durée, et peut, dans certains cas, largement dépassés les seuils autorisés. Les procédures qui exposent le plus les patients au DEHP sont :

- L'oxygénation par membrane extra-corporelle
- La nutrition totale entérale et parentérale
- L'hémodialyse
- La transplantation cardiaque et pontage aorto-coronarien
- La transfusion sanguine massive
- L'exsanguino-transfusion chez les nouveau-nés

Dans le cas particulier de la transfusion sanguine, il a été montré que les poches de sang contiennent non seulement du DEHP, mais également son métabolite principal, le MEHP (Figure 2) qui est formé à partir de lipases plasmatiques (Peck et al., 1979, Inoue et al. 2005). Cette réaction augmente avec le temps de stockage et la température (Inoue et al., 2005), à l'inverse le stockage à basses températures, comme dans le cas de la conservation des globules rouges, le diminue (Rock et al., 1978). Or, le MEHP participe largement à la toxicité du DEHP comme cela sera expliqué plus loin.

b. Le cas particulier des fœtus et des nouveau-nés

Le DEHP a un impact sur le développement des organes génitaux, notamment masculins et de ce fait, la vie fœtale et l'enfance sont des périodes de vulnérabilité quant à l'exposition du DEHP. Les soins intensifs pédiatriques représentent également une situation particulière où les multiples dispositifs et procédures médicales exposent les enfants à des doses massives de DEHP, au point où la toxicité aiguë de ce dernier pourrait être atteinte (Calafat et al., 2004). Cette vulnérabilité provient du fait que les quantités de DEHP auxquelles sont soumis les nouveau-nés sont plus importantes par rapport à leur poids et que le système de métabolisation, notamment la capacité de glucurono-conjugaison, est encore immature à la naissance, ce qui augmente la demi-vie du DEHP et de ses métabolites dans le corps et majore encore l'exposition. Ainsi, l'exposition de DEHP dans le cadre de la nutrition parentérale chez des nouveau-nés en soins intensifs a été mesurée dans une étude réalisée par Takatori *et al.* (2008). Ils ont estimé qu'un enfant de 3 kg recevait 148 µg/kg/j de DEHP dans le pire des cas, ce qui dépasse largement les seuils autorisés. Dans le même ordre d'idées, selon Calafat *et al.* (2004a), l'exposition d'un nouveau-né prématuré dans les unités de soins intensifs pédiatriques pourrait atteindre 6000 µg/kg/j pour un poids de naissance de 1.5 kg, ce qui représente plus de 100 fois les seuils autorisés (voir section « Réglementation »).

A titre informatif, le DEHP est aussi retrouvé dans le lait maternel et traverse le placenta grâce à sa lipophilie. Dans ce contexte, les femmes enceintes ou allaitantes hospitalisées en soins intensifs ou nécessitant des traitements de longue durée tels une hémodialyse représentent aussi une population à risque vis-à-vis des enfants qu'elles portent (Bagel et al., 2011). Ce travail ne traitera cependant pas de cette population.

4. REGLEMENTATION

En Suisse, l'Ordonnance sur la réduction des risques liés aux produits chimiques (ORRChim) régit par l'interdiction ou par des restrictions particulières certains produits chimiques susceptibles d'avoir des effets nocifs sur un organisme. Ainsi, la mise sur le marché de produits et préparations qui contiennent du DEHP à des fins d'emploi est interdite. De même, l'interdiction s'étend à leur emploi dans un cadre professionnel ou commercial, avec quelques exceptions comme les médicaments, les denrées alimentaires, les aliments pour animaux, les produits phytosanitaires, les carburants ou dans les produits cosmétiques dans lesquelles ils sont autorisés. De plus, le DEHP est autorisé si sa concentration est inférieure à 0.1% de la masse de la préparation. Au-delà de cette valeur, l'utilisateur doit être informé de sa présence et des modalités pour une utilisation sûre de l'objet.

La Loi sur les produits chimiques (LChim) et l'Ordonnance sur les produits chimiques (OChim) établissent les exigences concernant la mise sur le marché des substances et des préparations, comme la classification, l'étiquetage et l'emballage des substances et préparations, les scénarios d'exposition, les fiches de données de sécurité, les notifications et la déclaration des nouvelles substances. Elle règle également certaines conditions liées à leur remise et l'utilisation des substances préoccupantes. L'OChim est largement harmonisée avec les règlements européens REACH (Registration, Evaluation, Autorisation and Restrictions of Chemicals) et CLP (Classification, Labelling, Packaging). Ainsi, le DEHP y est classé parmi plus de 200 substances comme « substance extrêmement préoccupantes ».

Concernant les dispositifs médicaux, la présence de phtalates y est autorisée. Dans certains cas, il n'existe pour l'heure aucun produit de substitution de caractéristiques et de valeur égales. Ils sont classés tant en Suisse que dans l'UE parmi les excipients soumis à déclaration obligatoire (www.bafu.admin.ch; OFSP, les phtalates, 2012).

Concernant les seuils admis dans la population, la dose journalière tolérable (TDI) du DEHP de la European Food Safety Authority est établie à 50 µg/kg/j, basé sur le No-observed-adverse-effect-level (NOAEL) de la toxicité reproductive chez les rats. L'European Chemical Bureau recommande en plus un TDI à 20 µg/kg/j pour les enfants de moins de 3 mois et pour les femmes en âge d'avoir des enfants, et de 25 µg/kg/j pour les enfants de 3 mois à 1 an. Cela signifie que l'ingestion de ces doses chaque jour au cours d'une vie ne compromet pas la santé humaine. Cela dit, les TDI sont basées sur une exposition continue sur le long terme, contrairement à l'exposition médicale qui est généralement à court terme et plus conséquente (Bagel et al., 2011), ce qui limite les comparaisons.

5. TOXICOLOGIE

La toxicologie du DEHP est étudiée depuis les années 70 et de très nombreuses études sur le sujet ont déjà été menées. Les avancées de la technologie ont permis de mieux comprendre la toxicologie de cette substance et la chapitre suivant détaille son impact sur l'animal et sur l'Homme.

5.1. Toxicocinétique

Quand le DEHP se retrouve dans la lumière intestinale suite à son ingestion par exemple, des lipases pancréatiques le transforment en ses monoesters, le MEHP et le 2-éthylhexanol (voir Figure 2). Une étude menée chez l'homme a estimée l'absorption orale à environ 50% sur la base de l'excrétion urinaires des métabolites (Anderson et al., 2011). Dans une autre étude, l'ingestion d'une dose simple (645 ± 20 µg/kg) de DEHP marqué au deutérium par 4 volontaires entre 28 et 61 ans a montré une absorption très rapide, avec le premier pic sanguin en l'espace d'une demi-heure. Si le DEHP est injecté directement dans le système sanguin au cours d'une transfusion sanguine ou d'un don d'aphérèse par exemple, des lipases plasmatiques et hépatiques se chargent de le métaboliser. Dans ce dernier cas, la biodisponibilité assumée est de 100%. Récemment, l'agence européenne des produits chimiques (ECHA) a également montré que les phtalates sont absorbés par les poumons à hauteur de 75-100%, mais que l'absorption cutanée semble limitée à environ 5% chez l'Homme.

Une fois absorbés, les monoesters sont largement distribués dans tout l'organisme. Le métabolisme du 2-éthylhexanol a été étudié uniquement chez le rat. Chez ce dernier, il est rapidement métabolisé en acide 2-éthylhexanoïque, puis plusieurs étapes l'amène à être excrété sous forme d'acétate et de CO₂ (Albro, 1975). Chez l'Homme, le mécanisme est probablement similaire car on retrouve dans l'urine plusieurs de ces métabolites suite à l'ingestion de DEHP (Albro et Lavenhar, 1989).

Le MEHP, lui, est métabolisé au niveau hépatique en plusieurs étapes complexes, indépendamment de la voie d'administration, jusqu'à aboutir à des conjugués sulfatés, glucuronatés et des métabolites libres dont les principaux sont le OH-MEHP, COOH-MEHP, le 5cx-MEHP et le oxo-MEHP (Figure 2), qui, ensembles avec le DEHP et le MEHP sont considérés comme responsables de l'activité biologique de la substance mère. Les métabolites primaires, secondaires et tertiaires sont tous rapidement excrétés dans les urines en l'espace de 24 heures (Schmid et Schlatter, 1985; Anderson et al., 2011). Le profil toxicocinétique du DEHP et de ces métabolites est dépendant de la dose administrée, de l'espèce, de l'âge et des tissus examinés. Bien que des variations interindividuelles du taux de glucurono-conjugaison des métabolites ont été observé (Silva et al., 2006), il est considéré que la plupart des métabolites excrétés dans l'urine (>65%) sont des glucuronides, indépendamment de la route d'administration (Calafat et McKee, 2006;

Kurata et al., 2012). Or, les glucuronides ne sont pas actifs biologiquement. La biodisponibilité des composés actifs est donc grandement augmentée si le taux de glucurono-conjugaison est bas comme chez les nouveau-nés et par conséquent, plus d'effets délétères sont attendus.

Des études sur des rats indiquent que le DEHP est largement distribué dans les tissus sans s'accumuler (Pollack et al., 1985a). L'ingestion de ¹⁴C-DEHP par des rats et des ouistitis ont montré des distributions tissulaires similaires (foie > reins > plasma > testicules) (Rhodes et al., 1986). Le DEHP et ses métabolites peuvent passer dans le lait maternel (Mortensen et al., 2005; Zhu et al., 2006). Chez les rongeurs, des chercheurs ont observé que le DEHP traversait le placenta et se retrouvait chez le fœtus (Srivastava et al., 1989). Le MEHP a été trouvé dans le liquide amniotique humain (Silva et al 2004; Calafat et al., 2006).

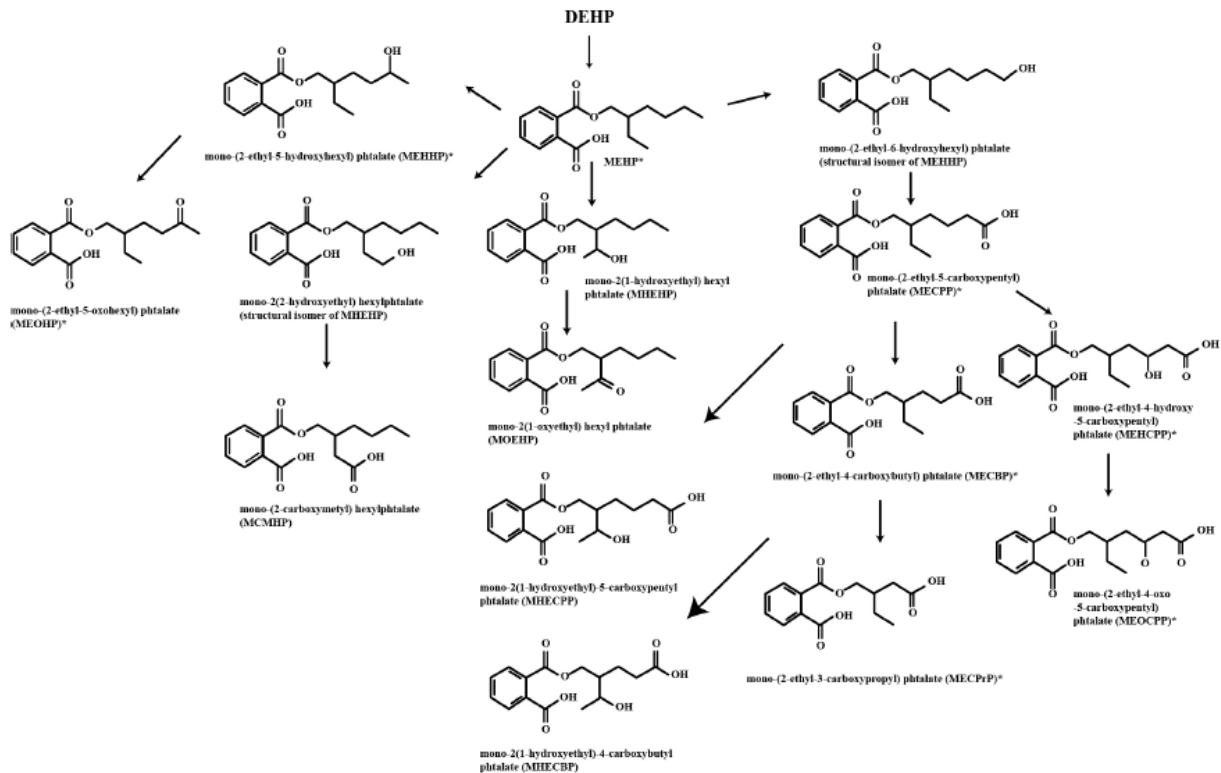


Figure 2. Voies métaboliques du DEHP chez l'Homme (Silva MJ, Samandar E, Preau JL, Needham LL, Calafat AM. Urinary oxidative metabolites of di(2-ethylhexyl) phthalate in humans. Toxicology, 2006;219(1-3):22-32.)

En résumé, le DEHP est une substance dont le profil toxicocinétique change fortement d'une espèce à l'autre. Chez l'Homme, il est rapidement absorbé, puis métabolisé en divers sous-produits dont l'activité biologique varie. La plupart des métabolites sont excrétés dans l'urine en l'espace de 24 heures et aucune accumulation n'ont été observée dans les tissus.

5.2. Toxicodynamique animale

Les études montrent une toxicité aiguë faible pour le DEHP, puisque la dose létale médiane (LD₅₀) est au-dessus de 25 g/kg chez les rongeurs. En intraveineux, la toxicité aiguë est plus importante avec une LD₅₀ d'environ 200-250 mg/kg chez les rats. La toxicité aiguë du MEHP est environ 5 fois plus importante que le DEHP (ECB, 2008; NTP-CERHR, 2005).

En ce qui concerne la toxicité de doses répétées, l'administration orale à court terme de plusieurs doses de DEHP chez des rats montre que ce dernier affecte principalement les reins, le foie et les testicules avec notamment une augmentation du poids absolu et relatif des reins, une augmentation de l'incidence et de la sévérité des calcifications des papilles rénales et des néphropathies chroniques progressives. De plus, sur des études à long terme, il n'y a aucune évidence que ces altérations soient réversibles suite à l'arrêt de l'exposition de DEHP. Le NOAEL dans le cadre de la toxicité rénale et de 500 mg/kg de DEHP dans l'alimentation, ce qui correspond

approximativement à 29 et 36 mg/kg/j chez les rats mâles et femelles respectivement (David et al., 2000a) Plus les doses sont élevées, plus les lésions sont sévères. L'effet le plus marquant est l'hépatomégalie due à la prolifération hépatocellulaire, la prolifération des peroxyosomes et des tumeurs hépatocellulaires, dont le mécanisme sera détaillé plus loin. Le NOAEL pour les effets non-néoplasiques sur le foie des souris étaient de 100 mg/kg de DEHP dans la nourriture, ce qui correspond à 19 mg/kg/j. L'hépatosplénomégalie a été associée à l'activation des récepteurs des proliférateurs de peroxyosomes (PPAR) par le DEHP et le MEHP. Une étude de 22 mois a montré que des souris PPAR α -null dont l'alimentation contenait 0.01% ou 0.05% de DEHP ne développaient pas d'altérations hépatiques significatives (Ito et al., 2007).

La toxicité hépatique subchronique a été étudiée chez des singes soumis à des transfusions sanguines répétées, mimant ainsi les conditions de patients nécessitant des transfusions sanguines ou plaquettaires régulières. Des dysfonctions hépatiques et une choléstase étaient induites chez le groupe dont le dispositif médical contenait du DEHP, alors que le groupe dont les poches et les tubulures étaient en polyéthylène ne présentait pas ces complications. La dose moyenne cumulative après une année était de 69.3 mg (ou 21.3 mg/kg de poids corporel), ce qui, selon les auteurs, serait comparable aux doses auxquelles sont exposés les individus nécessitant un traitement transfusionnel chronique (Jacobson et al., 1977).

Les effets du DEHP sur les peroxyosomes ont été évalués sur 4 jeunes primates pour comparer les effets hépatiques observés chez les rongeurs après exposition à de hautes doses de phtalates. Les chercheurs ont administrés du DEHP (500 mg/kg/j) ou une solution méthylcellulose de 10 mL/kg (contrôle) par intubation gastrique pendant 14 jours consécutifs. Le clofibrate, connu pour être un proliférateur de peroxyosomes chez les rongeurs, a été utilisé comme substance de référence aux doses de 250 mg/kg/j. Aucune des substances n'ont induit une augmentation du poids corporel ou du poids du foie et aucune lésion histo-pathologique ou fonctionnelle du foie, des reins ou des testicules n'a pu être mis en relation avec le traitement (Pugh et al. 2000).

a. Génotoxicité

LE DEHP a été étudié largement dans des études *in vitro* et *in vivo* à propos de sa génotoxicité et les résultats sont négatifs pour la plupart d'entre elles (IARC, 2012). Des résultats positifs ont été obtenus avec des cellules humaines pour des cassures des brins d'ADN, des transformations cellulaires, l'induction d'aneuploïdie et la prolifération cellulaire. Cependant, il n'est pas encore clair si ces résultats doivent être associés à une toxicité directe du DEHP et de ses métabolites ou secondaire à un stress oxydatif ou encore si la toxicité provient d'autres événements biochimiques. L'hypothèse la plus répandue serait que leur génotoxicité proviendrait de leur capacité à produire des radicaux libres *in vivo* et *in vitro* (Erkekoglu et al., 2011). Toutefois, des études *in vivo* sur la mutagénicité du DEHP ont été conduites chez deux modèles murins, et le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) estime les résultats contradictoires et non-concluants (IARC, 2012). Le CIRC conclut qu'avec une approche basée sur l'évidence, le DEHP et ses métabolites majeurs peuvent être considérés comme non-mutagéniques.

b. Carcinogénicité

De nombreuses études d'exposition orale sur le long terme de DEHP ont clairement indiqué le caractère hépatocarcinogène de cette substance chez les souris et les rats des deux sexes. Ces études sont résumés dans les rapports du CIRC (IARC, 2000; 2012). Le NOAEL pour l'induction de tumeurs du foie chez les souris est de 28.9–36.1 mg/kg/j chez les rats et de 98.5-116.8 mg/kg/j de DEHP dans l'alimentation chez les souris (David et al., 2000a, b).

Les mécanismes carcinogéniques du DEHP chez les rongeurs sont principalement médiés par l'activation du récepteurs PPAR- α et par conséquent, la prolifération des peroxyosomes. Les peroxyosomes sont des organites cellulaires impliqués dans la métabolisation des acides gras et des acides aminés, ainsi que dans la réduction des dérivés réactifs de l'oxygène (reactive oxygen species) et la synthèse des plasmalogènes (Smith et Aitchison, 2013). Le DEHP se lie aux PPAR- α

qui sont des protéines de la superfamille des récepteurs nucléaires, liant les lipides et agissant comme facteur de transcription de certains gènes. L'activation de ces derniers entraîne une hépatomégalie par augmentation du nombre des péroxysomes, une augmentation de la formation de radicaux libres ainsi que d'autres oxydants. De plus, les radicaux libres ont un rôle de signalisation lors de la prolifération cellulaire du parenchyme causée par les proliférateurs des péroxysomes (Rusyn et al., 2000a, b), ce qui laisse suspecter que leur augmentation interférerait avec la prolifération cellulaire. En outre, l'activation d'enzymes métaboliques et de cytochromes comme la catalase, le CYP450 et l'acyl coenzyme A oxydase suite à un contact avec des phtalates conduit également à la production de radicaux libres dans le compartiment intracellulaire (Gazouli et al., 2002 ; Klaunig et al., 2003 ; O'Brien et al., 2005). Or, les radicaux libres causent des dommages aux brins d'ADN et peuvent induire des mutations (Reddy et Rao, 1989 ; Yeldani et al., 1989).

L'exposition du DEHP chez les rats et les souris induit ainsi la formation de carcinomes hépatocellulaires et d'adénomes (Astill et al., 1996 ; Kaufmann et al., 2002). D'autres études ont montré que les rongeurs sont l'espèce la plus sensible aux effets carcinogéniques des phtalates, alors que les hommes et les singes sont plus résistants et ne répondent que faiblement à des doses qui induisent une réponse marquée chez les rats et les souris (Cattley et al., 1998; Seo et al., 2004). En effet, le PPAR- α est largement plus exprimé dans le foie des rongeurs que chez les humains, bien que le CIRC souligne que l'expression humaine de PPAR- α n'a pas été déterminée chez suffisamment d'individus pour conclure univoquement que toute la population exprime moins PPAR- α que les rongeurs (IARC, 2012). De plus, il existe des différences entre humains et rongeurs quant à la capacité des agonistes des PPAR- α à activer leur récepteurs, puisque la séquence d'acides aminés de la protéine qui se lie aux récepteurs diffère entre les deux espèces. Aucune étude n'a rapporté d'évidence que le DEHP active le PPAR- α *in vivo* au niveau du foie humain (IARC, 2012), même si des études *in vitro* ont montré que les 3 sous-types de PPAR (α , β , γ) étaient activés par le MEHP.

En résumé, il y a donc des différences marquées entre les espèces en regard de la prolifération des péroxysomes et de la réponse hépatique au DEHP. Les rongeurs semblent avoir la sensibilité la plus grande, tandis que les primates sont relativement insensibles à ces effets. Ces différences entre les espèces ont été considérées comme d'une importance critique pour l'évaluation du risque de cancer humain (IARC, 2000). Cependant, d'autres voies de signalisation cellulaires en relation avec la carcinogenèse du DEHP chez les rongeurs ont été mises en évidence plus récemment. Sur cette base, le CIRC (IARC) a indiqué qu'il y a suffisamment d'évidence en expérimentation animale pour juger de la carcinogénicité du DEHP et l'a classé comme « possiblement carcinogénique chez les humains » (groupe 2B).

c. Immunotoxicité

Larsen *et al.* (2001a, 2001b) ont étudié l'effet d'adjuvant immunologique du DEHP et du MEHP sur un modèle murin lors d'injection sous-cutanée. Les anticorps IgE, IgG₁ et IgG_{2a} spécifiques à l'ovalbumine ont été mesurés comme indicateur de la réponse inflammatoire. Le MEHP a induit une augmentation significative des IgE et IgG₁ alors que le DEHP a seulement augmenté les taux d'IgG₁ qui prédomine dans l'allergie de type 1. L'effet d'adjuvant immunologique a été observé lorsque le DEHP était mélangé à l'ovalbumine. Cependant, bien que l'induction d'IgG₁ spécifiques à l'ovalbumine soit un indicateur d'immunogénicité chez des modèles murins, il n'est pas encore clair si cette réponse doit être considérée comme protectrice ou comme un facteur de risque pour le développement d'une hypersensibilité IgE-médiée (Larsen et Nielsen, 2007 ; Larsen et al., 2007). Aucune induction de la production d'anticorps anti-ovalbumine n'a été observé lors de l'administration de DEHP mélangé à de l'ovalbumine par voie topique ou sous-cutanée (Dearman et al., 2008).

Dans un autre modèle murin pour la dermatite atopique, l'administration combinée de DEHP et d'un antigène a induit une exacerbation de la réponse cutanée dudit antigène (Takano et al., 2006).

Le MEHP induit également une immunosuppression, c'est-à-dire une réduction des taux d'anticorps (Larsen et al., 2001b), indiquant que le DEHP et ses métabolites ont le potentiel d'interagir avec le système immunitaire de multiples manières, bien qu'il n'est pas encore connu si ces effets sont retrouvés chez les humains après une exposition orale ou parentérale.

Les données épidémiologiques montrent des arguments que l'exposition aux phtalates peut être associée à un risque accru de développer des allergies et de l'asthme et que ces substances seraient de potentiels contributeurs à l'augmentation de la prévalence de maladies atopiques médiée par les IgE et de l'asthme en Europe et aux USA. Le DEHP a le potentiel d'interagir avec le système immunitaire selon les conditions d'exposition, mais il manque des preuves scientifiques pour conclure définitivement à un effet immunosuppresseur du DEHP (SCENIHR, 2016)

d. Reprotoxicité

La toxicité reproductive ou développementale (reprotoxicité) du DEHP a été étudiée chez les rats, les souris, les hamsters, les furets et les ouistitis. Les effets testiculaires ont été démontrés chez les rongeurs mâles et les mâles d'autres espèces également, ce qui fait que le DEHP est classé comme toxique pour la reproduction de catégorie 1B (SCENIHR, 2016)

La toxicité testiculaire du DEHP est dépendant de l'âge (Sjoberg et al., 1985). Le plus bas NOAEL se situe à 3.5-4.8 mg/kg chez les rats. Les femelles doivent être exposées lors de la période la plus critique de la gestation pour que des effets testiculaires apparaissent à de basses concentrations (<10 mg/kg) (Fabjan et al., 2006). Chez la souris, après une exposition continue pendant l'allaitement, un NOAEL de toxicité développementale de 20 mg/kg/j a pu être identifié (Lamb et al., 1987). Dans une autre étude, le NOAEL pour la toxicité développementale était de 40 mg/kg/j (Huntingdon et al., 1997).

Il y a des différences de sensibilité entre les différentes espèces quant à la toxicité reproductive mâle du DEHP; les rongeurs sont plus susceptibles que les primates non-humains. La même dose (2000 mg/kg/j per os pendant 14 jours) induit une atrophie testiculaire, mais pas chez les ouistitis (Rhodes et al., 1986). Dans une autre étude, si des ouistitis étaient exposés à des hautes concentrations de DEHP (jusqu'à 2'500 mg/kg/j) pendant 65 semaines, aucun effet ne fut remarqué au niveau des testicules (Tomonari et al., 2006). Cependant, les études sur les ouistitis sont discutables puisque contrairement aux humains, leur capacité à métaboliser le DEHP en ses métabolites biologiquement actifs est faible.

L'administration de 500 mg/kg/j de MBP (un phtalate similaire au MEHP) pendant 7 semaines à des guenons enceintes n'a conclu à aucun effet indésirable sur la masculinisation de la progéniture, ce qui est cohérent avec l'absence d'effet sur la stéroïdogenèse des testicules de ouistitis (McKinnell et al., 2009). Ce traitement n'avait également pas de conséquence sur la fonction reproductive à l'âge adulte. Cependant, des traitements similaires (500 mg/kg/j de MBP) chez des ouistitis mâles peu après la naissance, quand les testicules sécrètent activement de la testostérone, causent environ 50% de réduction des taux sanguins de testostérone après seulement une seule dose et 14 jours de traitement continu induisent une hyperplasie/hypertrophie des cellules de Leydig (cellules productrices de testostérone) (Hallmark et al., 2007).

Les raisons de ces différences entre fœtus et nouveau-nés des ouistitis quant à la susceptibilité de leurs testicules au MBP ne sont pas encore bien élucidées, mais on peut présumer que la même chose s'applique avec le MEHP. Comme le ouistiti est un modèle acceptable pour le développement et la fonction testiculaire périnatale, ainsi que la spermatogenèse à l'âge adulte (Millar et al., 2000 ; McKinnell et al., 2001, 2013), ces observations sont de première importance pour l'extrapolation chez les humains.

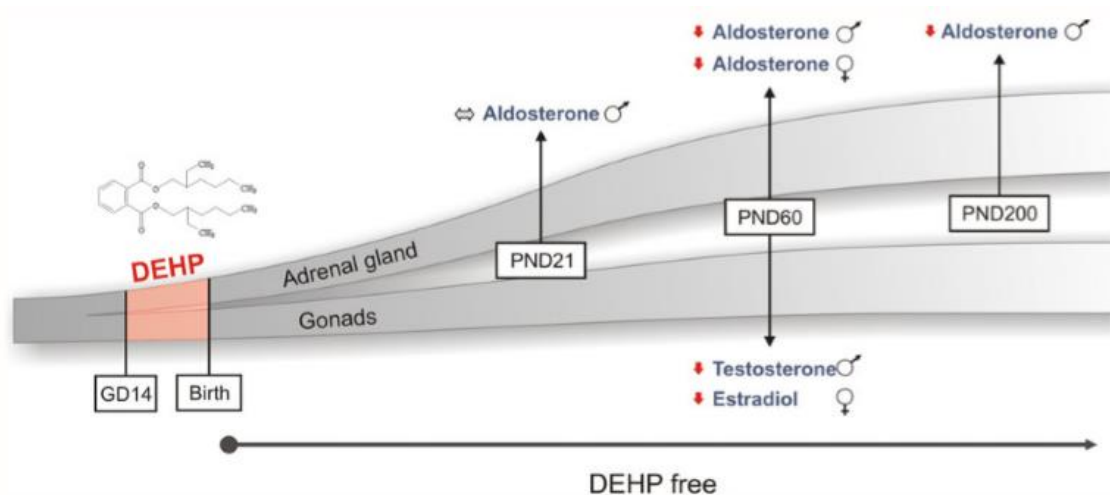


Figure 3. Une exposition prénatale aux phtalates peut mener à des modifications épigénétiques qui impactent la formation de stéroïdes au cours de la vie. GD14 : 14^{ème} jour de gestation ; PND21 : 21^{ème} jour post-natal ; PND60 : 60^{ème} jour post-natal ; PND200 : 200^{ème} jour post-natal (Martinez-Arguelles et Papadopoulos, 2016).

Dans une récente étude, Martinez-Arguelles *et al.* (2016) ont gavé de DEHP des rattes du 14^e jour de gestation à la naissance de leur portée et ont mis en évidence une diminution de la production de testostérone par les cellules de Leydig fœtales, ce qui correspondait avec une diminution de l'expression des enzymes stéroïdogéniques également étudiées. Comme les cellules de Leydig fœtales ont un autre précurseur que les cellules de Leydig adultes, les chercheurs ont suggéré que l'exposition au DEHP active un mécanisme d'ordre épigénétique qui altère le développement du système endocrinien de manière complexe.

Cette étude a aussi mis en évidence que le DEHP altérait la fonction endocrinienne d'autres organes, comme les glandes surrénales. Ces dernières partagent la même origine développementale que les gonades. Dans cette même étude, les taux de testostérone et d'aldostérone n'avaient pas varié au 21^e jour après la naissance comparé aux contrôles chez la progéniture mâle, mais étaient significativement diminués au 60^e jour (Figure 3). De plus, l'aldostérone était durablement diminuée, même après le 200^e jour. Chez la progéniture femelle, les taux sériques d'estradiol et d'aldostérone étaient également diminués mais de manière moins importantes que chez les mâles. L'aldostérone est par ailleurs une hormone importante dans l'équilibre électrolytique et la régulation de la tension artérielle. Dans une autre étude, Martinez-Arguelles *et al.* (2013) ont mis en évidence une diminution des tensions artérielles systoliques et diastoliques chez la progéniture de rattes Sprague-Dawley exposées à du DEHP à une période critique de leur grossesse.

Le DEHP n'est pas le seul phtalate qui diminue les taux fœtaux de testostérone puisque l'on retrouve aussi cet effet chez le DBP, le BBP et le DiOP. Cette diminution de la production d'androgènes chez les fœtus contraste avec le fait qu'on retrouve des niveaux d'expression d'enzymes stéroïdogéniques normaux ou même modestement augmentés chez la progéniture devenue adulte (Culty *et al.*, 2008; Martinez-Arguelles et Papadopoulos, 2016). Ces données indiquent donc que les effets anti-androgéniques du DEHP à court terme et à long terme sont causés par des mécanismes différents. Les mécanismes à long terme sont probablement partagés avec d'autres phtalates puisque l'exposition *in utero* du DBP a aussi montré une diminution des niveaux de testostérone chez le rongeur adulte (Jiang *et al.*, 2007). Cependant, il manque des études sur d'éventuels effets additifs et synergiques des différents phtalates entre eux.

Des études *in vitro* utilisant du tissu testiculaire d'hommes adultes ou une lignée cellulaire surrénalienne active stéroïdogéniquement a mis en évidence qu'une concentration de 10⁻⁵ mol/L de DEHP ou MEHP pouvait supprimer totalement la production de testostérone sans affecter les autres fonctions sécrétoires des cellules de Leydig ou de Sertoli (Desdoits-Lethimonier *et al.*,

2012). Les auteurs de cette étude ont également mesurés le MEHP intra-tissulaire dans leur culture après 24h d'exposition et ont conclu que la « concentration efficace » était très faible et pourrait correspondre aux concentrations auxquelles sont exposés les hommes, impliquant par ce fait que des effets similaires sur la stéroïdogénèse testiculaire pourraient se retrouver dans la population. De nombreuses autres études ont également montré une toxicité du DEHP et du MEHP sur les cellules germinales fœtales.

Chez les femmes, des effets ovariens du DEHP ont été décrit (Lovekamp-Swan et Davis, 2003) tout comme des effets sur l'axe hypothalamo-hypophysio-ovarien chez les rattes adultes (Liu et al., 2014). Les informations sur le sujet sont cependant limitées comparé aux effets sur les mâles. Une récente revue de littérature a récemment été publiée et conclut que les phtalates perturbent l'ovogénèse et diminuerait les taux d'estradiol (Hannon et Flaws, 2015)

Les mécanismes d'action du DEHP au niveau de ses effets toxiques sur l'appareil reproducteur masculins sont également médiés par les récepteurs activés par les PPAR. Les sous-types α et β sont exprimés dans les testicules des rats adultes, tout comme les cellules de Sertoli et de Leydig (Corton et Lapinsky, 2005 ; Latini et al, 2006). Les effets anti-androgéniques sont le fruit de la réduction de la disponibilité des androgènes sur les organes cibles, induisant des malformations des organes génitaux mâles et une diminution de la production de sperme à l'âge adulte (Gray et al., 2000 ; Barlow et al., 2003). Concrètement, le DEHP diminue les taux de testostérone lors d'une période critique de la différenciation du tractus reproducteur des fœtus (Parks et al., 2000) en réduisant l'expression de gènes responsable du transport du cholestérol et de la stéroïdogénèse (Thompson et al, 2004 ; Plummer et al., 2007). Tous ces gènes sont régulés par le facteur nucléaire stéroïdogénique SF-1 qui est inhibé après un traitement per os de 300 mg/kg/j de DEHP du 7^e jour au 21^e jour de la gestation de rattes Wistar (Borch et al., 2006). De plus, le DEHP interagit avec d'autres récepteurs comme le « human Pregnane X receptor » (hPXR) ou le human Constitutive Androstane Receptor (CAR) (Hurst et Waxman, 2004; Mnif et al., 2007; DeKeyser et al., 2011) qui pourraient également jouer un rôle dans les mécanismes mentionnés au-dessus, bien que plus d'études sont nécessaires.

5.3. Toxicodynamique humaine

Les études sur les animaux laissent entrevoir la complexité de la toxicologie du DEHP et de manière plus large, des phtalates. Les limites des modèles animaux ne permettent pas de transposer facilement aux humains les effets délétères répertoriés par ces études. En revanche, ils nous permettent de cibler la recherche sur l'Homme et de prédire l'impact du DEHP sur le corps humain. Les effets toxiques détaillés ci-après sont les effets attendus par une exposition estimée similaire à celle de la population générale. L'exposition de DEHP survenant dans un cadre médicale peut dépasser généralement largement cette exposition, ce qui laisse suggérer que d'autres effets indésirables pourraient survenir.

Les potentiels conséquences du DEHP sur le développement de l'appareil génital mâle comprendrait des hypospadias, des cryptorchidies et une réduction de la distance ano-génitale, ce qui correspond au syndrome de dysgénésie testiculaire. Deux études américaines portant sur des enfants mâles ont montré une association inversée entre les concentrations urinaires maternelles des métabolites du DEHP et la distance ano-génitale de leurs enfants (Swan et al., 2005; Suzuki et al., 2012) alors qu'une plus petite étude de Taiwan de 35 enfants n'a pas établi cette relation (Huang et al., 2009).

Concernant l'âge gestationnel, une étude cas-contrôle de 60 enfants à Mexico City a montré que les mères avec les plus hautes concentrations urinaires des métabolites de DEHP avaient 2-3 fois plus de risque d'avoir un enfant prématuré (Meeker et al., 2009). Une autre étude de 289 mères à New York mettait en évidence que la grossesse était diminuée de 5 jours en moyenne parmi les femmes avec les plus hautes concentrations urinaires de métabolites du DEHP (Whyatt et al., 2009). En revanche, plusieurs études ne suggèrent aucune relation entre l'exposition au DEHP et

la prématurité des nouveau-nés ou leur poids de naissance (Wolff et al., 2008; Philippat et al., 2011), voire une relation inversée, comme l'évoque une étude réalisée à New York qui montrait une tendance à un prolongement de la grossesse chez les mères avec de hautes concentrations urinaires de métabolites du DEHP et DEP (Wolff et al., 2008). La corrélation est donc peu solide.

A propos de la croissance infantile et du développement pubertaire, il n'y a pas d'association solide entre l'exposition au DEHP ou d'autres phtalates et le développement reproductif ou la temporalité de la puberté (SCENIHR, 2016). Cependant, il existe peu d'informations sur les nourrissons sujets à des interventions médicales périnatales, or l'on sait que l'exposition au DEHP dans ces situations peut être très importantes et que cette population est particulièrement sensible au DEHP.

Aucune étude n'a décrit une augmentation de l'incidence de cancer testiculaire en fonction de l'exposition aux phtalates. Cependant, il est maintenant accepté que les cancers testiculaires issus de cellules germinales dérivent de cellules germinales précancéreuses qui se forment lors de la période fœtale dans les testicules (Rajpert-De Meyts, 2006). Il faudrait donc plutôt investiguer l'exposition aux phtalates des mères lors de la grossesse, mais aucune étude n'a été rapportée sur le sujet jusqu'à présent.

Des études épidémiologiques indiquent que l'exposition à certains phtalates, notamment le DEHP et leurs métabolites, peut être associée à une augmentation du tour de taille, du BMI, de l'obésité et du diabète de type 2. Les résultats sont cependant contradictoires et une méta-analyse de 18 études a conclu qu'il n'y avait pas d'association (Goodman et al., 2014).

Une revue des données épidémiologiques a examiné la relation entre l'exposition aux phtalates dans la petite enfance et les conséquences sur la santé des enfants et a conclu que le risque de développer des maladies allergiques comme l'asthme et l'eczéma pourrait être augmenté (Braun et al., 2013). De plus, une exposition aux phtalates in utero pourrait induire un développement comportemental anormal et une fonction cognitive altérée (Engel et al., 2010; Whyatt et al., 2012; Factor-Litvak et al., 2014).

En résumé, le DEHP est toxique à différents niveaux chez l'Homme. Il diminuerait la production de testostérone, mais cela ne serait pas suffisant pour induire des malformations des organes génitaux mâles (cryptorchidie et hypospadias). Cependant, la fonction reproductrice pourrait être altérée car il diminue la concentration, la morphologie et la motilité des spermatozoïdes. C'est notamment l'exposition in utero qui majorerait ces effets. Concernant l'âge gestationnel, le poids de naissance et le développement pubertaire, les études réalisées jusqu'à présent se contredisent et aucune conclusion solide ne peut être citée. En revanche, le DEHP aurait un impact sur le développement cognitif des enfants. Aucune association avec l'obésité et le diabète de type 2 n'a été clairement prouvée jusqu'à présent.

6. Etude de cas

6.1. Transfusion sanguine

a. Préparation d'un concentré érythrocytaire

Pour récolter les CE, TIR utilise un kit de poches de sang CompoFlow® Select (CQ32250) de Fresenius Kabi couplé à une procédure standardisée telle décrite ci-après.



Figure 4. Kit de poches de sang CompoFlow® Select (www.fresenius-kabi.de)

Chaque volontaire signe un formulaire qui vérifie les critères d'exclusion du don de sang. Le dispositif médical est connecté au patient via une seule aiguille insérée dans une veine du bras. Un volume de $450 \text{ mL} \pm 50 \text{ mL}$ de sang est alors récolté en une dizaine de minutes. Le sang complet se mélange à 63 mL de la solution anticoagulante de citrate-phosphate-dextrose (CPD) de la première poche qui repose ensuite entre 2 et 4 heures à une température de $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Les poches sont ensuite centrifugées à $5'047 \text{ g}$ à 22°C pendant 13 minutes dans une centrifugeuse (Roto Silenta 630 RS, Hettich, Switzerland), laissant ainsi apparaître trois phases : le plasma (55%), la couche leucocytaire (<1%) et les érythrocytes (45%). La poche est ensuite mise sous presse semi-automatique afin de séparer les différentes phases et récolter le CE et le plasma dans deux poches distinctes. Simultanément, 100 mL de solution SAG-M humidifie le filtre leucocytaire et se mélange au CE. La dernière étape consiste à filtrer le CE par le filtre leucocytaire humidifié pour éliminer les leucocytes. La poche ainsi obtenue est désolidarisée du reste du dispositif et est conservée à 4°C jusqu'à son utilisation. Le volume moyen final d'un CE est d'environ 275 mL. L'hématocrite moyen est de $56.6 \pm 1.6\%$ à ce moment-là (Bardyn et al., 2017).

Dans le cadre de ce travail, on s'attend à ce que le DEHP migre dans les solutions CPD et SAG-M avant la récolte de sang, au cours de la récolte et lors du stockage des poches de sang. En effet, les tubulures du kit de prélèvement contiennent également du DEHP (données internes) et une certaine quantité de DEHP des tubulures est arrachée lors du passage du sang. Cette quantité de DEHP est cependant très faible en comparaison à la quantité de DEHP qui migre dans le CE lors du stockage de cette dernière et est considérée comme négligeable ici (Contreras et al., 1974).

b. Estimation de la quantité de DEHP dans un concentré érythrocytaire

Deux paramètres entrent en ligne de compte : (i) la présence de DEHP dans le kit avant le prélèvement de sang et (ii) l'accumulation du DEHP lors de la conservation de la poche de sang. Ces deux paramètres sont expliqués dans les équations ci-après.

(i) Présence de DEHP dans le kit de prélèvement avant la récolte de sang

Le DEHP contenu dans le PVC des poches du kit migre dans les solutions CPD et SAG-M avant la récolte de sang. La concentration de DEHP dans la solution CPD et SAG-M varie en fonction du moment de fabrication du kit de récolte de sang. Un kit de poches se conserve 2 ans.

$$m_{\text{DEHP CPD}} = [\text{DEHP}]_{\text{solution CPD}} \times V_{\text{CPD}} \quad (1)$$

Lors de la récolte de sang, le DEHP s'accumule préférentiellement dans le plasma et moins de 5% se retrouve dans les érythrocytes (Jaeger et al., 1978). Ainsi, seule la quantité de DEHP dans le volume de plasma est prise en compte (hypothèse).

De plus, lors de son passage dans la centrifugeuse, des mesures de laboratoire ont montré que le plasma est réduit 11 fois dans les CE (données internes). Cela signifie que la quantité de DEHP dans la solution CPD est également divisée par 11.

L'étape suivante comprend l'ajout de la solution SAG-M.

$$m_{\text{DEHP SAG-M}} = [\text{DEHP}]_{\text{SAG-M}} \times V_{\text{SAG-M}} \quad (2)$$

Ainsi, la masse de DEHP dans le CE directement après la récolte est de :

$$\begin{aligned} m_{\text{DEHP CE}} &= m_{\text{DEHP CPD}} / 11 + m_{\text{DEHP SAG-M}} \\ &= [\text{DEHP}]_{\text{CPD}} \times V_{\text{CPD}} / 11 + [\text{DEHP}]_{\text{SAG-M}} \times V_{\text{SAG-M}} \end{aligned} \quad (3)$$

La concentration de DEHP dans le CE juste après la récolte de sang est donc de :

$$[\text{DEHP}]_{\text{CE initiale}} = ([\text{DEHP}]_{\text{CPD}} \times V_{\text{CPD}} / 11 + [\text{DEHP}]_{\text{SAG-M}} \times V_{\text{SAG-M}}) / V_{\text{CE}} \quad (4)$$

(ii) Accumulation du DEHP dans la poche de sang en fonction de la durée de stockage

Chaque jour de stockage correspond approximativement à une quantité égale de DEHP qui s'accumule dans la poche, car la migration suit une cinétique linéaire (Contraras et al., 1974; Inoue et al., 2005). La concentration de DEHP en fonction du temps de stockage vaut donc :

$$[\text{DEHP}]_{\text{CE finale}} (t_{\text{stockage}}) = [\text{DEHP}]_{\text{CE}} + \zeta \times t_{\text{stockage}} \quad (5)$$

où m = masse [μg]; V = Volume [L]; CPD = Citrate-Phosphate-Dextrose ; SAG-M = Sel-Adénine-Glucose-Mannitol ; ζ = taux de DEHP journalier migrant de la poche vers le CE [$\text{g} / (\text{L} \times \text{jour})$] ; t = temps [j]

6.2. Thrombaphérèse

a. Préparation d'un concentré plaquettaire par thrombaphérèse

Pour réaliser une thrombaphérèse, TIR utilise un kit d'aphérèse Trima Accel de TerumoBCT (82410) couplée à une procédure standardisée. Le dispositif d'aphérèse est encastré dans la machine et cette dernière est réglée sur le mode adéquat par le personnel médical. La durée moyenne de la procédure est d'environ 105 minutes et dépend principalement du taux de plaquettes de l'individu. Ce sont près de 2 litres de sang qui sont traités par cycles de prélèvement d'environ 45 secondes. Une procédure standard compte donc une centaine de cycles. En fonction du taux de plaquettes du donneur, une poche contenant 3.7×10^{11} plaquettes ou 2 poches de 3.1×10^{11} plaquettes peut être obtenue. Après contrôle et manutention, on obtient un produit contenant 2.5×10^{11} plaquettes ou 2 produits contenant chacun 2.4×10^{11} plaquettes. A la fin de la procédure d'aphérèse, une poche de concentré thrombocytaire contient environ un volume de

150 mL auquel on ajoute 220 mL de solution conservatrice (ACD). Une poche de concentré de plaquettes se conserve 7 jours (données internes).

A noter que les tubulures du kit pour la thrombaphérèse contiennent du DEHP ; ce dernier sera arraché lors des multiples cycles de prélèvement de sang au cours de la procédure.

L'aphérèse thérapeutique diffère substantiellement au niveau de la procédure et ne sera pas traitée dans ce travail.

b. Estimation de la quantité de DEHP relarguée lors d'une procédure de thrombaphérèse

Lors de la procédure d'aphérèse, le sang du donneur arrache du DEHP dans les tubulures. Cette quantité de DEHP qui est par la suite relarguée chez le donneur dépend de nombreux facteurs. On peut citer entre autre la durée de la procédure de thrombaphérèse, la longueur des tubulures, leur rayon, le débit du sang dans la tubulure, etc. Deux modèles théoriques sont considérés : (i) chaque cycle d'aphérèse arrache la même quantité de DEHP aux tubulures et (ii) chaque cycle d'aphérèse arrache moitié moins de DEHP aux tubulures que le cycle précédent.

(i) Chaque cycle d'aphérèse arrache la même quantité de DEHP aux tubulures

$$m_{\text{DEHP tubulure}} = \omega \times t \times (D_{\text{aphérèse}} / D_{\text{référence}}) \quad (6)$$

Où ω = taux d'arrachage de DEHP [g/min]; t = temps de la procédure [min] ; D = débit [L/min]

(ii) Chaque cycle d'aphérèse arrache moitié moins de DEHP aux tubulures que le cycle précédent

$$m_{\text{DEHP tubulures}} = m_{\text{DEHP 1er cycle}} + m_{\text{DEHP 2ème cycle}} + \dots + m_{\text{DEHP n-ème cycle}} \quad (7)$$

$$m_{\text{DEHP tubulures}} = m_{\text{DEHP 1er cycle}} + m_{\text{DEHP 1er cycle}} / 2 + m_{\text{DEHP 1er cycle}} / 4 + m_{\text{DEHP 1er cycle}} / 8 + m_{\text{DEHP 1er cycle}} / 16 + \dots + m_{\text{DEHP 1er cycle}} / 2^{n-1} \quad (8)$$

$$\sum_{n=1}^{n-\text{ème cycle}} m_{\text{DEHP 1er cycle}} / 2^{n-1} \quad (9)$$

$$m_{\text{DEHP 1er cycle}} = (V_{\text{tubulures}} / D_{\text{aphérèse}}) \times \omega \times (D_{\text{aphérèse}} / D_{\text{référence}}) \quad (10)$$

où n = nombre de cycle d'aphérèse; $m_{\text{DEHP tubulures}}$ = masse de DEHP arraché aux tubulures par l'aphérèse; $m_{\text{DEHP 1er cycle}}$ = masse de DEHP arraché par le passage du sang dans les tubulures lors du premier cycle d'aphérèse; $D_{\text{aphérèse}}$ = débit du sang dans les tubulures lors de l'aphérèse; $D_{\text{référence}}$ = débit de référence issu de l'article « The effect of temperature on di(2-ethylhexyl)phthalate leaching from PVC infusion sets exposed to lipid emulsions, Rose *et al*, *Anesthesia*. 2012;67(5) : 514-20 ».

7. RESULTATS

7.1. Transfusion sanguine

(i) Présence de DEHP dans le kit de prélèvement avant la récolte de sang

Si le kit de prélèvement est neuf : $[\text{DEHP}]_{\text{CPD}} = 0 \mu\text{g/L}$ et $[\text{DEHP}]_{\text{SAG-M}} = 0 \mu\text{g/L}$

Selon l'équation (4), $[\text{DEHP}]_{\text{CE initiale}} = 0 \mu\text{g/L}$

Si le kit de prélèvement a 2 ans : $[DEHP]_{CPD\ 2\ ans} = 300.0\ \mu\text{g/L}$ (Veiga et al., 2012)

Sachant que $V_{\text{solution CPD}} = 0.063\ \text{L}$, $V_{\text{solution SAG-M}} = 0.100\ \text{L}$

Selon l'équation (1), $M_{DEHP\ CPD} = 300.0\ \mu\text{g} \times 0.063\ \text{L} = 18.9\ \mu\text{g}$

Selon l'équation (2), $M_{DEHP\ SAG-M} = 300.0\ \mu\text{g/L} \times 0.100\ \text{L} = 30.0\ \mu\text{g}$

Sachant que $V_{CE} = 0.275\ \text{L}$

Selon l'équation (4), $[DEHP]_{CE\ initiale} = (18.9\ \mu\text{g} / 11 + 30.0\ \mu\text{g}) / 0.275\ \text{L} = 115.3\ \mu\text{g/L}$

(ii) Accumulation de DEHP dans la poche de sang en fonction de la durée de stockage

Plusieurs études ont cherché à mesurer la quantité de DEHP qui migre dans les poches de sang lors du stockage de ces dernières. Inoue *et al.* (2005) a montré qu'après 20 jours de stockage, un CE contenait en moyenne une concentration de $30\ \mu\text{g/mL}$ (Inoue et al., 2005). Pour de telles valeurs et avec une cinétique de diffusion linéaire, le taux ζ de DEHP migrant par jour est égal à $0.0015\ \text{g} / \text{L} \times \text{jour}$. Selon l'équation (5), on retrouverait 17 mg de DEHP après 42 jours pour une poche de sang de 275 mL.

Selon Jaeger et Rubin (1972), 0.25 mg de DEHP migrerait dans 100 mL de sang contenu dans une poche par jour. Le taux ζ vaut dans ce cas $0.0025\ \text{g} / \text{L} \times \text{jour}$. Selon l'équation (5), on obtiendrait 29 mg après 42 jours de stockage pour une poche de 275 mL.

Selon Contreras *et al.* (1974), c'est environ 0.268 mg de DEHP qui migrerait dans 100 mL de sang complet par jour. Le taux ζ vaut dans ce cas $0.00268\ \text{g} / \text{L} \times \text{jour}$. Selon l'équation (5), on obtiendrait 31 mg de DEHP après 42 jours de stockage pour une poche de 275 mL.

Selon Peck *et al.*, (1979), on retrouverait une concentration d'environ $200\ \mu\text{g} / \text{mL}$ après 42 jours de stockage d'un CE. Cela signifie que le taux ζ vaut $0.00476\ \text{g} / \text{L} \times \text{jour}$. Selon (5), on trouverait 55 mg de DEHP après 42 jours dans une poche de 275 mL.

Les deux graphiques ci-après réalisés selon l'équation (5) expriment les quantités de DEHP qui migrent dans une poche de sang en fonction de la durée de conservation selon les différentes études mentionnées.

Kit de prélèvement neuf

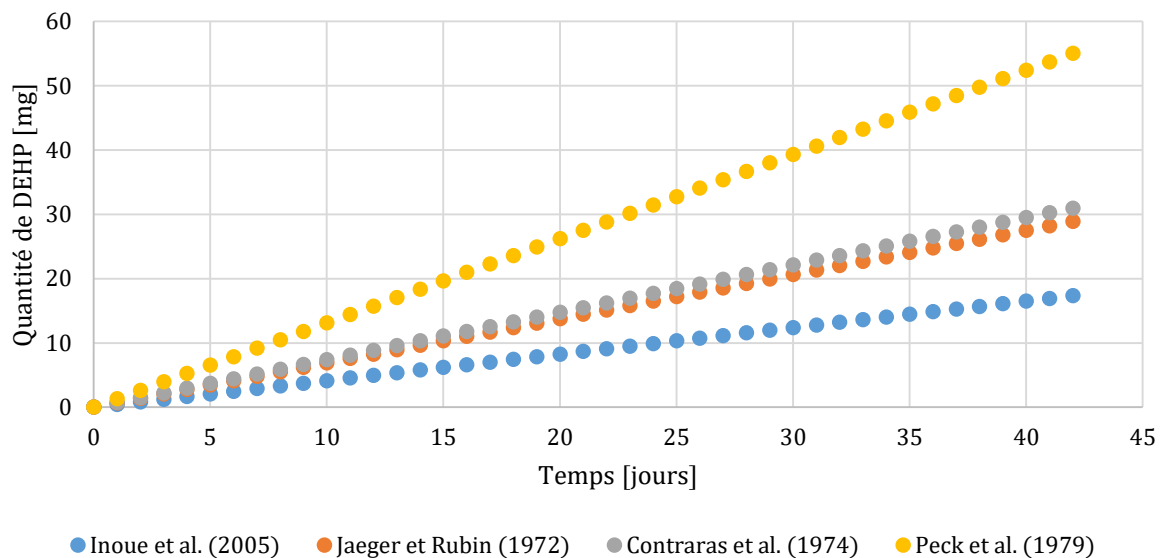


Figure 5. Quantité de DEHP migrant dans une poche de sang lors de son stockage en fonction du temps pour un kit de prélèvement neuf.

Kit de prélèvement de 2 ans

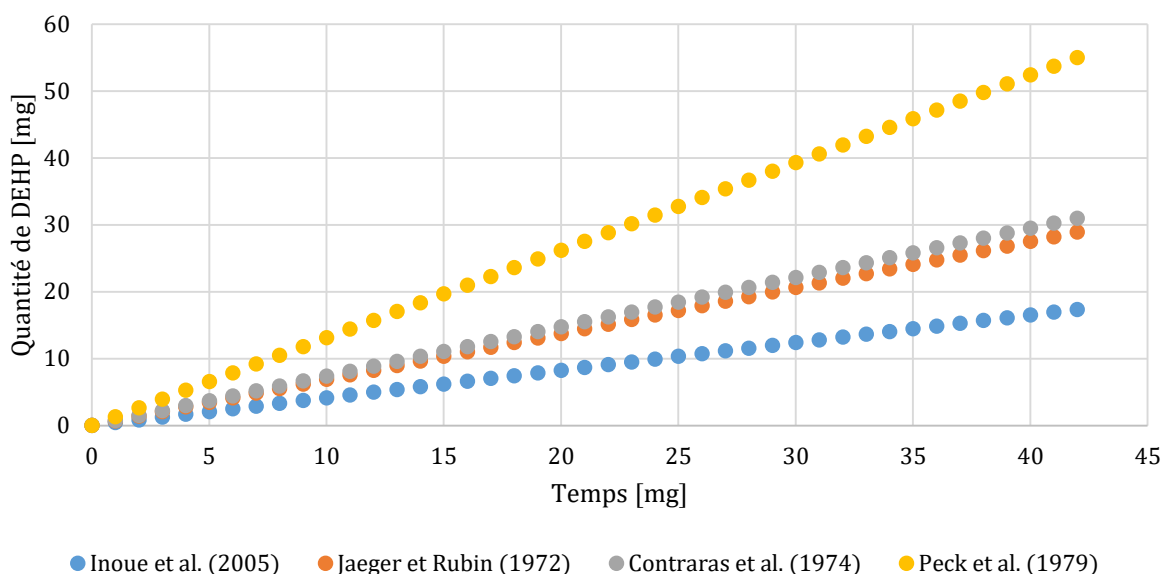


Figure 6. Quantité de DEHP migrant dans une poche de sang lors de son stockage en fonction du temps pour un kit de prélèvement de 2 ans.

a. Cas de transfusions chronique en pédiatrie

Pour se rendre compte des quantités de DEHP auxquelles sont soumis les patients pédiatriques, différentes situations dans lesquelles un enfant reçoit une transfusion sanguine sont évaluées. Au CHUV, les transfusions pédiatriques sont standardisées : les CE utilisés sont vieux de 5 jours maximum et les quantités transfusées sont de 15 mL/kg en 3 heures, peu importe l'âge de l'enfant (données internes). Un nouveau-né de 3.5 kg reçoit donc 52.5 mL de CE au cours d'une transfusion, tandis qu'un garçon de 5 ans pesant 18 kg recevra 270 mL de CE. Le **tableau 3** expose les doses de DEHP auxquelles pourraient être soumis des enfants dans ces deux situations.

Tableau 3. Exemples de doses de DEHP possible lors d'une transfusion sanguine

		Dose de DEHP pour une transfusion [μ g]	Seuils autorisés par jour [μ g]
Cas 1: Nouveau-né de 3.5 kg	Situation favorable (selon Inoue <i>et al.</i> (2005) et poche de 2 jours)	163	70
	Situation défavorable (selon Peck <i>et al.</i> (1979) et poche de 5 jours)	1'256	70
Cas 2: Enfant de 5 ans de 18 kg	Situation favorable (selon Inoue <i>et al.</i> (2005) et poche de 2 jours)	841	900
	Situation défavorable (selon Peck <i>et al.</i> (1979) et poche de 5 jours)	6'458	900
Cas 3 : Enfant de 10 ans de 38 kg	Situation favorable (selon Inoue <i>et al.</i> (2005) et poche de 2 jours)	1'710	1'900
	Situation favorable (selon Peck <i>et al.</i> (1979) et poche de 5 jours)	13'623	1'900

7.2. Thrombaphérèse

Pour rappel, lors d'une procédure de thrombaphérèse, 2 litres de sang sont traités en 105 minutes. Le débit moyen de sang est donc de $D_{\text{aphérèse}} = 2 \text{ L} / 105 \text{ min} = 0.0190 \text{ L/min}$.

La longueur totale et le rayon moyen des tubulures du kit d'aphérèse valent $L_{\text{tubulures}} = 2.3 \text{ m}$ et $r_{\text{tubulures}} = 0.0015 \text{ m}$.

Le volume de sang dans les tubulures correspond donc à $V_{\text{tubulures}} = 2.3 \times \pi \times 0.0015^2 = 1.626 \times 10^{-5} \text{ m}^3 = 0.0166 \text{ L}$.

Rose *et al.* (2012) ont étudié les taux d'extraction de DEHP par plusieurs solutions passant dans des tubulures pendant 6 heures à un débit de $D_{\text{référence}} = 2 \times 10^{-4} \text{ L/min}$.

A partir de cette étude, un taux d'arrachage de DEHP ω qui vaudrait $\omega = 2.78 \times 10^{-6} \text{ g/min}$ peut être extrapolé.

(i) Chaque cycle d'aphérèse arrache la même quantité de DEHP aux tubulures

A partir de la première hypothèse et selon l'équation (6), $m_{\text{DEHP tubulures}} = 27'800 \mu\text{g}$.

(ii) Chaque cycle d'aphérèse arrache moitié moins de DEHP aux tubulures que le cycle précédent

A partir de la 2^{ème} hypothèse et selon les équations (8), (9) et (10), $m_{\text{DEHP relargué}} = 451.37 \mu\text{g}$.

Le graphique ci-dessous exprime la quantité de DEHP arraché par cycle et le total de DEHP arraché en fonction du cycle.

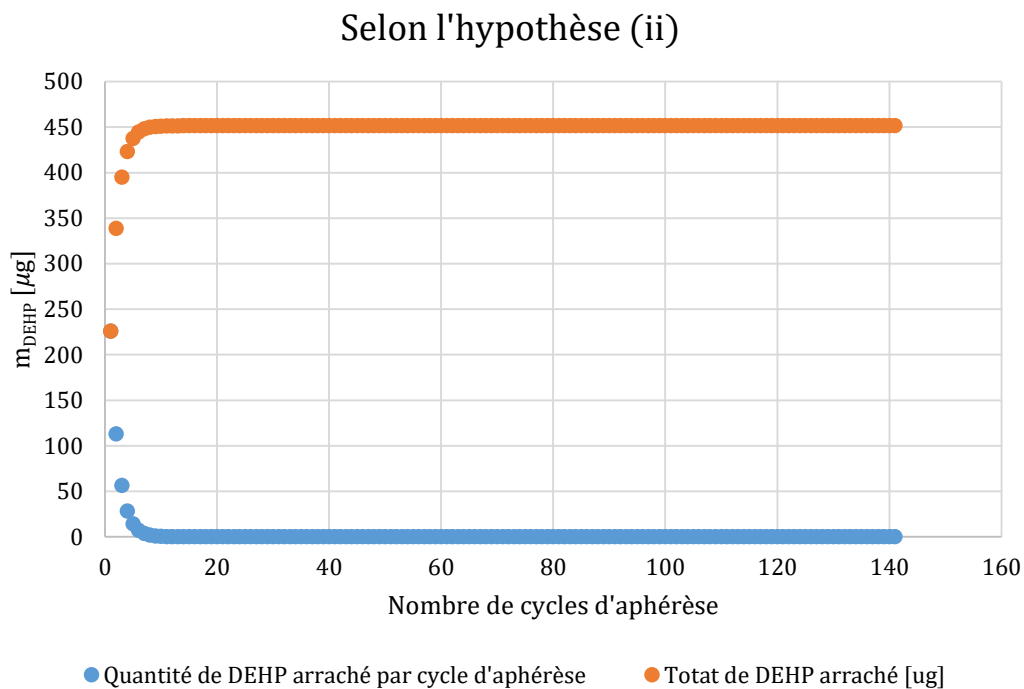


Figure 7. Quantité de DEHP arraché en fonction des cycles d'aphérèse

a. Cas de donneur de plaquettes par aphérèse

La situation d'un homme de 70 kg et d'une femme de 50 kg en bonne santé habituelle qui réalisent des dons de plaquettes par aphérèse chaque 6 semaine à TIR seront examinées. En une année, ils auront donné plus de 8 fois leurs plaquettes. Le tableau 4 expose les doses de DEHP auxquelles pourraient être soumis ces deux personnes.

Tableau 4. Exemples de doses de DEHP lors d'une thrombaphérèse

		Dose de DEHP pour un don de plaquettes [μg]	Seuils autorisés par jour [μg]	Dose de DEHP par année (= 8 dons de plaquettes)	Seuils autorisés par année [μg]
Homme de 70 kg en bonne santé	Selon (i)	27'800	3'500	222'400	1'278'375
	Selon (ii)	451	3'500	3'611	1'278'375
Femme de 50 kg en bonne santé	Selon (i)	27'800	2500	222'400	913'125
	Selon (ii)	451	2'500	3'611	913'125

8. DISCUSSION

Dans ce chapitre, les résultats obtenus sont présentés et interprétés dans un contexte plus général. Les limites de la recherche en toxicologie ainsi que les alternatives à l'utilisation au DEHP sont également abordées.

Les calculs décrits auparavant présentent de nombreuses limitations et doivent être compris comme des approximations. En effet, pour évaluer précisément les valeurs d'exposition au DEHP lors de transfusions sanguines ou chez les donneurs de plaquettes, des études expérimentales sont nécessaires. N'ayant pas la possibilité de reproduire par l'expérimentation les situations rencontrées en clinique, le travail a été orienté vers une approche théorique sur la base d'études les plus récentes possibles. Des éléments permettant d'extrapoler des résultats et d'approximer les quantités de DEHP auxquelles sont soumises les deux populations cibles ont été cherchés à partir de la littérature. Cette approche théorique fait intervenir de nombreux facteurs qu'il a fallu simplifier dans les calculs. Bagel *et al.* (2011) ont caractérisé les plus importants d'entre eux. Parmi eux, on retrouve la lipophilie des substances, la surface de contact du sang avec le DEHP contenu dans la matrice de PVC, le temps de contact, le débit de perfusion et la température. Loff *et al.* (2000), ont mis en évidence une augmentation de 20 à 30% de la quantité de DEHP relarguée par des tubulures en PVC lors d'une perfusion de lipides lorsque la température passe de 27 à 33°C tandis que Contreras *et al.* (1974), ont montré que lorsque des concentrés thrombocytaires provenant de sang complet (CPD) étaient stockés à 22°C pendant 72 heures, la quantité de DEHP était 4 fois plus importante que lors d'un stockage à 4°C pour la même durée.

Les résultats prennent en compte le plus de facteurs possible dans la limite de ce que la littérature existante fournit en informations.

8.1. Hypothèses de travail

Concernant les hypothèses de travail sur lesquelles se basent les résultats, les solutions CPD et SAG-M ont été assimilées à des solutions de NaCl 0.9% selon Veiga *et al.* (2012) car la littérature ne fournit pas de valeurs plus adéquates. Avec sa lipophilie, le DEHP migre très peu dans les solutions de conservation qui ne contiennent généralement pas de lipides.

Les plastiques utilisés dans les études sur lesquelles se basent les résultats ont été assimilés aux plastiques du TIR et du CHUV en sachant que le taux de DEHP dans les dispositifs médicaux peut varier d'une étude à l'autre, mais que le PVC dans les poches de sang ou les tubulures est composé généralement entre 30 à 40% en masse de DEHP (Sarath Josh et al., 2012).

La migration du DEHP lors du passage du sang dans les tubulures n'a pas été prise en compte dans la partie « Transfusion sanguine » car elle dépend du débit de sang qui varie grandement d'un donneur à un autre. Ce débit est beaucoup plus standardisé dans les procédures d'aphérèse (partie « Thrombaphérèse »). De plus, la quantité de DEHP extraite des tubulures est proportionnellement très faible en comparaison avec la quantité secondaire à la migration du DEHP lors du stockage de la poche de sang. A ce propos, nous sommes partis du principe que la

migration du DEHP dans le sang lors du stockage de ce dernier était linéaire afin de simplifier les calculs. Cependant, ce processus est complexe et le coefficient de diffusion du DEHP change avec le ratio de plastifiant dans le PVC. Plus il y a de DEHP mélangé au PVC, plus le coefficient de diffusion sera important, ce qui signifie que plus de DEHP migrera dans la solution à partir du PVC. De plus, les interactions moléculaires entre le DEHP et le PVC évoluent avec le taux de DEHP. Il est donc probable que plus la concentration de DEHP dans le sang soit importante, plus la migration de ce dernier devienne faible. A ce propos, Salloum *et al.* (2016) ont étudié au microscope confocal la diffusion du DEHP dans l'eau et l'éthanol à partir d'une feuille de PVC et ils ont montré qu'à taux bas, l'existence d'interactions fortes entre les atomes d'hydrogène du PVC et le groupe CO du DEHP diminuent drastiquement la mobilité du phtalate, que jusqu'à 16.7% de DEHP, la mobilité du DEHP est très réduite à cause de ces interactions et qu'au-delà, la mobilité du DEHP augmente, même si ce dernier reste encore intimement lié à la matrice de PVC. A partir de 33%, le DEHP s'agrège dans le PVC et devient très mobile, ce qui augmenterait par exemple son relargage dans les solutions des poches de sang. Ainsi, la diffusion du DEHP des dispositifs médicaux en PVC dans le sang n'est pas un processus linéaire stricto sensu et il est possible que la quantité « libre » de DEHP contenu dans le PVC s'épuise avant la fin du stockage de la poche de sang ou avant la fin de la procédure d'aphérèse, comme dans l'hypothèse (ii) de la partie « Thrombaphérèse ».

8.2. Résultats de la transfusion sanguine

Il ressort des résultats obtenus que les transfusions sanguines exposent les patients pédiatriques à des doses de DEHP pouvant dépasser plusieurs fois les seuils autorisés, soulevant des préoccupations concernant les effets néfastes développés dans le chapitre « Toxicologie ». Les résultats concordent avec une étude menée par Loff *et al.* (2000) où 20 mL de CE ont été infusés à des bébés de 2 kg. Des doses totales entre 144 et 608 μg de DEHP ont été retrouvées par la suite chez les enfants. Rapportée au poids, ce sont entre 72 et 304 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de DEHP auxquels ont été exposés ces nouveau-nés. Dans ce contexte, une transfusion isolée ne paraît a priori pas dangereuse pour la santé des enfants en comparaison aux bénéfices immédiats, mais les situations nécessitant des transfusions régulières comme les maladies hématologiques chroniques, par exemple une thalassémie majeure, sont à risque de générer des effets secondaires sur le long terme chez le nouveau-né et l'enfant en bas âge. De plus, la transfusion sanguine n'est pas l'unique procédure à exposer les patients à des hautes doses de DEHP et d'autres interventions sont reconnues pour être largement vectrice de DEHP. Fisher *et al.* (2012) conclut dans une étude lausannoise que les professionnels de la santé doivent donc être particulièrement précautionneux dans les unités de soins intensifs pédiatriques où peuvent se combiner plusieurs procédures relarguant de fortes doses de DEHP comme l'alimentation parentérale et l'oxygénation par membrane extra-corporelle, en plus des transfusions sanguines.

Les figures 5 et 6 se basent sur des études relativement anciennes et il est difficile de savoir si les taux de DEHP dans les poches de sang sont les mêmes qu'à l'époque où Contreras *et al.* (1974) ont mené leur étude. Il est probable que les valeurs issues de l'étude d'Inoue *et al.* (2005) soient les plus valables à l'heure actuelle, mais il est intéressant d'observer que les résultats des quatre études utilisées ont le même ordre de grandeur.

La similarité entre les figures 5 et 6 provient du fait que le DEHP migre principalement dans les poches de sang lors du stockage de ces dernières. Dans les solutions CPD et SAG-M ne s'accumule que peu de DEHP, malgré une durée de vie du kit de prélèvement pouvant aller jusqu'à deux ans. Les courbes des deux figures sont linéaires car une des hypothèses de travail est de partir du principe que la migration du DEHP dans les poches de sang se faisait selon un processus linéaire. La réalité est probablement un peu différente mais l'étude de Veiga *et al.* (2012) montre des courbes très proches à celles de ce travail, bien que cette étude soit réalisée avec des solutions de NaCl et de glucose entre autre.

8.3. Résultats de la thrombaphérèse

Concernant la thrombaphérèse, les résultats sont moins tranchés. La première hypothèse (i) dans laquelle chaque cycle d'aphérèse arracherait la même quantité de DEHP aux tubulures paraît peu probable, car la quantité de DEHP « libre » dans les tubulures est limitée. De plus, par analogie, Buchta *et al.* (2005) ont montré qu'une diminution importante de la charge en DEHP pouvait être obtenue en lavant les poches des concentrés thrombocytaires avec une solution saline avant leur utilisation.

La deuxième hypothèse (ii) paraît plus réaliste et évalue à 451 μg la quantité de DEHP auquel est exposé un donneur de plaquettes à chaque thrombaphérèse. Cette valeur isolée ne dépasse pas les seuils autorisés en vigueur, ce qui laisse suggérer que les implications pour la santé humaine ne sont pas préoccupantes, même si les dons de plaquettes sont faits chaque 6 semaine (recommandations à TIR).

La figure 7 montre qu'il faut moins de 10 cycles pour atteindre la quantité maximale de DEHP extractible des tubulures lors d'une procédure d'aphérèse. Cela signifie qu'au-delà de 10 cycles d'aphérèse, les tubulures ne contiendraient plus de DEHP « libres ». L'hypothèse (ii) selon laquelle chaque cycle d'aphérèse arracherait moitié moins de DEHP que le précédent, ne se base sur aucune donnée de la littérature et doit être comprise comme une tentative de simulation. Il paraît évident que chaque cycle d'aphérèse arrache une quantité moindre que le cycle précédent, mais il est difficile d'estimer de manière théorique la quantité qui diminue à chaque cycle. Cependant, les valeurs obtenues concordent avec plusieurs études sur le sujet. Koch *et al.* (2005a) ont évalué l'exposition d'un donneur volontaire de plaquettes lors d'une procédure de thrombaphérèse (« dual-needle » technique) et ont mesuré que l'exposition absolue était de 2'600 μg de DEHP, tandis que l'exposition rapportée au poids corporel équivalait à 31.6 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$, ce qui pouvait dépasser les TDI le jour de la procédure. Buchta *et al.* (2003) ont également entrepris de déterminer l'exposition au DEHP de 36 donneurs de plaquettes au travers de procédures d'aphérèse continue et discontinue. Rapportées au poids corporel, ils ont mesuré des expositions entre 1.8 et 20.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ avec une moyenne à 6.46 $\mu\text{g}/\text{kg}$ par procédure. Les concentrations sanguines de DEHP sont rapidement revenues aux niveaux mesurés avant l'aphérèse et aucune variation des enzymes hépatiques n'a été mesurée lors des 48 heures qui ont suivies. Ils conclurent que l'exposition, bien qu'importante, était en deçà des seuils autorisés. Pour finir, Koch *et al.* (2005b) dans une autre étude ont tenté de mesurer cette fois l'exposition de 12 donneurs de plaquettes sains et volontaires, 6 par procédure d'aphérèse discontinue et 6 par procédure continue. Les doses absolues moyennes d'exposition de DEHP chez les donneurs étaient de 1'200 μg pour la technique discontinue et 2'100 μg pour la technique continue, alors que la dose en rapport au poids équivalait à 18.1 et 32.3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ respectivement. Ils conclurent que les marges de sécurité en vigueur pouvaient être insuffisantes pour protéger les garçons et les femmes en âge de procréer des effets du DEHP sur le système reproductif et que l'aphérèse discontinue devait être préférée pour ces populations. C'est donc des résultats similaires qui sont retrouvés dans ces autres études et confortent l'idée que les résultats de ce travail ne se sont pas abusifs.

8.4. Toxicologie

Les études de toxicologie animale sur le DEHP abondent, mais les conséquences d'une exposition chronique sur l'Homme sont encore peu claires. La complexité de la toxicologie du DEHP et les limites des modèles animaux sont en cause. Concernant les études épidémiologiques déjà réalisées chez l'Homme, de nombreuses limitations liées à l'exposition du DEHP et aux propriétés particulières des phtalates empêchent de tirer des corrélations solides. Par exemple, la mesure du DEHP dans les urines n'étant pas facile au vu de sa courte demi-vie, il est courant que son exposition soit estimée indirectement via l'usage de matériaux plastiques. Des co-expositions importantes peuvent également se retrouver en milieu professionnel. L'exposition au DEHP provient essentiellement de l'alimentation et cela génère un biais important en fonction de

la région où les études sont menées. De plus, l'alimentation est vectrice d'autres perturbateurs endocriniens qui peuvent également avoir un impact sur la santé humaine et induire un facteur confondant. L'exposition médicale quant à elle est très variable et souvent de courte durée, ce qui complique la compréhension de son impact sur la santé. Cette complexité rend difficile l'identification d'un lien causal entre un niveau d'exposition au DEHP et un effet clinique clair.

Les études se basant sur les métabolites urinaires du DEHP pour quantifier son exposition se heurtent à la courte demi-vie de ces derniers qui compliquent les mesures. A cela s'ajoute encore les variations du métabolisme entre les modèles animaux et la forte disparité des effets entre les différentes espèces. Il faut donc poursuivre les études toxicologiques dans ce domaine en espérant que la technologie ouvre de nouvelles pistes pour caractériser l'impact du DEHP.

8.5. Alternatives au DEHP

La nécessité de trouver des alternatives à l'utilisation du DEHP dans les dispositifs médicaux est une réflexion de longue date. Plusieurs stratégies ont été imaginées : le développement de plastifiants moins toxiques pour la santé, la réduction des capacités migratrices du DEHP par des astuces lors de la production ou du stockage des PSL ou la substitution du PVC par un autre polymère.

Le choix d'une alternative au DEHP est complexe car de nombreuses contraintes empêchent l'utilisation de produits moins nocifs pour la santé. En effet, le produit alternatif doit non seulement être biocompatible, mais également présenter des propriétés mécaniques stables pour toute la durée d'utilisation, tandis que les coûts de production doivent être supportables. Plusieurs classes de composés chimiques ont été étudiées à cette fin comme les citrates, les adipates, les trimellitates, les azélates et les sébaçates et plusieurs d'entre eux sont déjà disponibles sur le marché. Toutefois, une toxicité humaine a également été retrouvée chez ses substances alternatives (SCENIHR, 2016).

En ce qui concerne les mesures qui permettent de réduire les capacités migratrices du DEHP, les pratiques actuelles limitent cette migration. Le refroidissement des poches à température ambiante après la récolte de sang, l'utilisation de solutions de stockage autre que le plasma, l'utilisation de sang fraîchement récolté pour la transfusion chez des nouveau-nés ou, pour la thrombaphère, le rinçage des tubulures par une solution hydrosaline, sont quelques-unes des techniques qui permettent de réduire l'exposition au DEHP. A nouveau, bien qu'efficaces, certaines de ces méthodes entraînent une augmentation importante des coûts ou ne sont pratiquement pas envisageables pour des raisons techniques.

Une des problématiques de la recherche d'une alternative au DEHP est qu'il a montré des bénéfices importants pour le stockage des CE : les poches de sang qui contiennent du DEHP induisent jusqu'à 50% de moins d'hémolyse que les poches « DEHP-free » (Horowitz et al., 1985; Labow et al., 1987; Myhre et al., 1987). Ainsi, les poches contenant du DEHP permettrait de conserver les CE plus longtemps. Des solutions existent cependant ; afin de pallier à la perte de stabilité des globules rouges qu'entraînerait l'utilisation d'autres plastiques, certaines améliorations pourraient être envisagées, notamment en privant les poches d'oxygène. En effet, les dommages oxydatifs sont la cause principale des lésions de stockage observées sur les globules rouges (D'Alessandro et al., 2015; Prudent et al., 2015; Bradyn et al., 2017). Des récentes études ont montré que le stockage des globules rouges dans un milieu dont la saturation en O₂ est limitée à 15% serait plus favorable pour les érythrocytes car la concentration d'hémoglobine oxydée, qui joue un rôle critique dans le développement de dommages oxydatifs, serait plus basse (Jarolim et al., 1990; Yoshida et al., 2007). Le contrôle de la saturation en O₂ dans les poches de sang serait ainsi une alternative intéressante à l'utilisation de phtalates pour ne pas diminuer la qualité du sang stocké.

9. CONCLUSION

Ce travail a montré que la présence de DEHP dans les poches de sang est un problème de santé publique dans la mesure où il peut poser problèmes pour des populations particulièrement vulnérables à cette substance : les fœtus et les enfants. Il est possible que des transfusions

sanguines régulières puissent amener ce type de patients à développer des effets indésirables liés au DEHP. Au-delà de la médecine transfusionnelle, il existe des situations cliniques qui exposent les enfants à des doses encore plus importantes de DEHP comme la nutrition parentérale ou l'oxygénation par membrane extra-corporelle. Il ne s'agit pas de contester les indications à de telles interventions sur la santé des patients pédiatriques, mais de chercher à caractériser les effets délétères à long terme que pourrait entraîner un séjour hospitalier prolongé, par exemple aux soins intensifs, et l'exposition massive de DEHP que cela entraîne. Des études observationnelles chez TIR et au CHUV chez des donneurs ou des patients pourraient par exemple permettre d'approfondir cet aspect. Les chercheurs doivent également poursuivre leur travail en toxicologie afin de mieux comprendre les mécanismes engendrés par l'exposition de DEHP sur le corps humain. Actuellement, malgré des avancées importantes en la matière, peu de certitudes existent au sujet des effets sur l'Homme. Les modèles animaux utilisés ont livrés beaucoup d'informations, mais devant leurs nombreuses limitations, il devient nécessaire de trouver de nouveaux moyens d'investiguer ce sujet. Au vu des disparités entre les espèces, les seuils autorisés devraient éventuellement être reconsidérés puisqu'ils sont basés sur les modèles animaux d'une part, et sur une exposition continue d'autre part. Peu d'études se sont attachées à caractériser les effets d'une exposition au DEHP importante mais de courte durée, similaire à l'exposition médicale. De même, il faut garder à l'esprit que le DEHP n'est qu'un phtalate parmi d'autres et qu'aucune étude ne porte sur l'effet de l'exposition concomitante de plusieurs phtalates. Ainsi, de multiples champs de recherches sont encore à investiguer pour faire avancer la problématique du DEHP.

10. REFERENCES

- Albro P. The Metabolism of 2-Ethylhexanol in Rats. *Xenobiotica*. 1975;5(10):625-36.
- Albro P, Lavenhar S. Metabolism of Di(2-Ethylhexyl)Phthalate. *Drug Metabolism Reviews*. 1989;21(1):13-34.
- Almeras C, Cancan Y, Gereec V, Millet M. *Projet PERSAN Les Phtalates*. Ecole des hautes études en santé publiques; 2010.
- Anderson W, Castle L, Hird S, Jeffery J, Scotter M. A twenty-volunteer study using deuterium labelling to determine the kinetics and fractional excretion of primary and secondary urinary metabolites of di-2-ethylhexylphthalate and di-iso-nonylphthalate. *Food and Chemical Toxicology*. 2011;49(9):2022-9.
- Astill B, Gingell R, Guest D, Hellwig J, Hodgson J, Kuettler K, et al. Oncogenicity testing of 2-ethylhexanol in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice. *Toxicological Sciences*. 1996;31(1):29-41.
- Anses (Avis relatif à l'élaboration d'une valeur toxicologique de référence chronique par ingestion pour le phtalate de bis(2-éthylhexyle) (DEHP)). Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation de l'environnement et du travail; 2012. Rapport No.: 2012-SA-0180.
- Bagel S, Dessaigne B, Bourdeaux D, Boyer A, Bouteloup C, Bazin J-E, et al. Influence of Lipid Type on Bis (2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) Leaching From Infusion Line Sets in Parenteral Nutrition. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 2011;35(6):770-5.
- Bardyn M, Tissot J-D, Prudent M. Oxidative stress and antioxidant defenses during blood processing and storage of erythrocyte concentrates. *Transfusion Clinique et Biologique*. 2017;
- Barlow N, Phillips S, Wallace D, Sar M, Gaido K, Foster P. Quantitative changes in gene expression in fetal rat testes following exposure to Di(n-butyl) Phthalate. *Toxicological Sciences*. 2003;73(2):431-41.

Becker K, Seiwert M, Angerer J, Heger W, Koch H, Nagorka R, et al. DEHP metabolites in urine of children and DEHP in house dust. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2004;207(5):409-17.

Borch J, Metzдорff S, Vinggaard A, Brokken L, Dalgaard M. Mechanisms underlying the antiandrogenic effects of diethylhexyl phthalate in fetal rat testis. *Toxicology*. 2006;223(1-2):144-55.

Braun J, Sathyanarayana S, Hauser R. Phthalate exposure and children's health. *Current Opinion in Pediatrics*. 2013;25(2):247-54.

Buchta C, Bittner C, Höcker P, Macher M, Schmid R, Seger C, et al. Donor exposure to the plasticizer di(2-ethylhexyl)phthalate during plateletpheresis. *Transfusion*. 2003;43(8):1115-20.

Buchta C, Bittner C, Heinzl H, Höcker P, Macher M, Mayerhofer M, et al. Transfusion-related exposure to the plasticizer di(2-ethylhexyl)phthalate in patients receiving plateletpheresis concentrates. *Transfusion*. 2005;45(5):798-802.

Calafat A, Needham L, Silva M, Lambert G. Exposure to Di-(2-Ethylhexyl) Phthalate Among Premature Neonates in a Neonatal Intensive Care Unit. *Pediatrics*. 2004;113(5).

Calafat A, McKee R. Integrating biomonitoring exposure data into the risk assessment process: Phthalates [diethyl phthalate and di(2-ethylhexyl)phthalate as a case study. *Environmental Health Perspectives*. 2006;114(11):1783-9.

Cattley R, DeLuca J, Elcombe C, Fenner-Crisp P, Lake B, Marsman D, et al. Do peroxisome proliferating compounds pose a hepatocarcinogenic hazard to humans? *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 1998;27(1):47-60.

Clark K, Cousins I, Mackay D. Assessment of Critical Exposure Pathways. *The Handbook of Environmental Chemistry*. 2013;3Q:227-62.

Contreras T, Sheibley R, Valeri C. Accumulation of Di-2-Ethylhexyl Phthalate (DEHP) in Whole Blood, Platelet Concentrates, and Platelet-Poor Plasma. *Transfusion*. 1974;14(1):34-46.

Corton J, Lapinskas P. Peroxisome proliferators-activated receptors: Mediators of Phthalate ester-induced effects in male reproductive tract? *Toxicological Sciences*. 2005;83(1):4-17.

Culty M, Thuillier R, Li W, Wang Y, Martinez-Arguelles D, Benjamin C, et al. In Utero Exposure to Di-(2-ethylhexyl) Phthalate Exerts Both Short-Term and Long-Lasting Suppressive Effects on Testosterone Production in the Rat. *Biology of Reproduction*. 2008;78(6):1018-28.

David RM, Moore M, Finney D, Guest D. Chronic Toxicity of Di(2-ethylhexyl)phthalate in Rats. *Toxicological Sciences*. 2000a;55(2):433-43.

David RM, Moore M, Finney D, Guest D. Chronic Toxicity of Di(2-ethylhexyl)phthalate in Mice. *Toxicological Sciences*. 2000b;58(2):377-85.

De Montalambert M. Transfusion sanguine et hémoglobinopathies. *Hématologie*. 2004;6:470-8.

Dearman R, Beresford L, Bailey L, Caddick H, Betts C, Kimber I. Di-(2-ethylhexyl) phthalate is without adjuvant effect in mice on ovalbumin. *Toxicology*. 2008;244(2-3):231-41.

DeKeyser J, Laurenzana E, Peterson E, Chen T, Omiecinski C. Selective phthalate activation of naturally occurring human constitutive androstane receptor splice variants and the pregnane X receptor. *Toxicological Sciences*. 2011;120(2):381-91.

Desdoits-Lethimonier C, Albert O, Le Bizec B, Perdu E, Zalko D, Courant F, et al. Human testis steroidogenesis is inhibited by phthalates. *Human Reproduction*. 2012;27(5):1451-9.

Doull J, Cattley R, Elcombe C, Lake B, Swenberg J, Wilkinson C, et al. A Cancer Risk Assessment of Di(2-ethylhexyl)phthalate: Application of the New U.S. EPA Risk Assessment Guidelines. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 1999;29(3):327-57.

ECB (European Chemical Bureau), European Union Risk Assessment Report for Bis(2-ethylhexyl) phthalate. 2008. Disponible sur:

<https://echa.europa.eu/documents/10162/e614617d-58e7-42d9-b7fb-d7bab8f26feb>

Engel S, Miodovnik A, Canfield R, Zhu C, Silva M, Calafat A, et al. Prenatal Phthalate Exposure Is Associated with Childhood Behavior and Executive Functioning. *Environmental Health Perspectives*. 2010;118(4):565-71.

Erkekoğlu P, Rachidi W, Yüzügüllü O, Giray B, Öztürk M, Favier A, et al. Induction of ROS, p53, p21 in DEHP- and MEHP-exposed LNCaP cells-protection by selenium compounds. *Food and Chemical Toxicology*. 2013;60:563-4.

Erkekoglu P, Kocer-Gumusel B. Genotoxicity of phthalates. *Journal Toxicology Mechanisms and Methods*. 2014;24:616-26.

Erythropel H, Maric M, Nicell JA, Leask RL, Yargeau V. Leaching of the plasticizer di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) from plastic containers and the question of human exposure. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2014;98(24):9967-81.

Fabjan E, Hulzebos E, Mennes W, Piersma A. A category approach for reproductive effects of phthalates. *Critical Reviews in Toxicology*. 2006;36:695-726.

Factor-Litvak P, Insel B, Calafat A, Liu X, Perera F, Rauh V, et al. Associations between Maternal Prenatal Exposure to Phthalates on Child IQ at Age 7 Years. *PLoS One*. 2014;9(12):e114003.

Fischer C, Graz M, Muehlethaler V, Palmero D, Tolsa J-F. Phthalates in the NICU: Is it safe? 2013;49:413-9.

Gazouli M, Yao Z, Boujrad N, Corton J, Culty M, Papadopoulos V. Effect of peroxisome proliferators on Leydig cell peripheral-type benzodiazepine receptor gene expression, hormone-stimulated cholesterol transport and steroidogenesis: role of the peroxisome proliferator-activator receptor alpha. *Endocrinology*. 2002;143(7):2571-83.

Glättli S. L'utilisation des produits chimiques: ils sont partout! [Internet]. Office fédéral de l'environnement. 2015. Disponible sur:

https://www.bafu.admin.ch/bafu/fr/home/themes/sante/sante--dossiers/magazine-environnement-sante/l_utilisation-des-produits-chimiques--ils-sont-partout.html

Goodman M, Lakind J, Mattison D. Do phthalates act as obesogens in humans? A systematic review of the epidemiological literature. 2014;44(2):151-75.

Graham PR. Phthalate ester plasticizers - why and how they are used. *Environmental Health Perspectives*. 1973;3:3-12.

Gray L, Ostby J, Furr J, Price M, Veeramachaneni D, Parks L. Perinatal exposure to the phthalates DEHP, BBP and DINP, but not DEP, DMP, or DOTP, alters sexual differentiation of the male rat. *Toxicological Sciences*. 2000;58(2):350-65.

Hallmark N, Walker M, McKinnell C, Mahood I, Scott H, Bayne R, et al. Effects of monobutyl- and di(n-butyl) phthalate in vitro on steroidogenesis and Leydig cell aggregation in fetal testis explants from the rat: comparison with effects in vivo in the fetal rat and neonatal marmoset and in vitro in the human. *Environmental Health Perspectives*. 2007;115(3):390-6.

Hannon P, Flaws J. The Effects of Phthalates on the Ovary. *Frontiers in Endocrinology*. 2015;6(8).

Heinemeyer G, Sommerfeld C, Springer A, Heiland A, Lindtner O, Greiner M, et al. Estimation of dietary intake of bis(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) by consumption of food in the German population. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2013;216(4):472-80.

Hopf N, Berthet A, Vernez D, Langard E, Spring P, Gaudin R. Skin permeation and metabolism of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP). *Toxicology Letters*. 2014;224(1):47-53.

Huang P, Kuo P, Chou Y, Lin S, Lee C. Association between prenatal exposure to phthalates and the health of newborns. *Environment International*. 2009;35(1):14-20.

Huber W, Grasl-Kraupp B, Schulte-Hermann R. Hepatocarcinogenic Potential of Di(2-Ethylhexyl)phthalate in Rodents and its Implications on Human Risk. *Critical Reviews in Toxicology*. 1996;26(4):365-481.

Huntingdon H. Phthalic acid, di(2-ethylhexyl) ester (DEHP): Study of embryo-foetal toxicity in the CD-1 mouse by oral gavage administration. 1997. Report No: 95/EHM007/0705.

Hurst C, Waxman D. Environmental phthalate monoesters activate pregnane X receptormediated transcription. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2004;199(3):266-74.

IARC (International Agency for Research on Cancer), Monograph on the evaluation of carcinogenic risk to humans, Some industrial chemicals, Di(2-ethylhexyl) phthalate; 2000, p. 41-148. Report No: 77.

IARC (International Agency for Research on Cancer). Di(2-ethylhexyl)phthalate. In: Some chemicals present in industrial and consumer products, food and drinking water. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans; 2012, p. 149-284.

Inoue K, Migaku K, Yamanaka R, Higuchi T, Ito R, Saito K, et al. Evaluation and analysis of exposure levels of di(2-ethylhexyl) phthalate from blood bags. *Clinica Chimica Acta*. 2005;358(1-2):159-66.

INTS (Institut National de la Transfusion Sanguine). Disponible sur : <https://www.ints.fr>

Ito Y, Yamanoshita O, Kurata Y, Kamijima M, Aoyama T, Nakajima T. Induction of peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR α)-related enzymes by di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) treatment in mice and rats, but not marmosets. *Archives of Toxicology*. 2007;81(3):219-26.

Jacobson M, Sherwin K, Grand R. Effects of a plasticizer leached from polyvinyl chloride on the subhuman primate: a consequence of chronic transfusion therapy. *Translational Research*. 1977;89(5):1066-79.

Jaeger R, Rubin R. Leakage of a phthalate ester plasticizer from polyvinyl chloride blood bags into stored human blood and its localization in human tissues. *N Engl J Med*. 1972;287:1114-8.

Jiang J, Ma L, Yuan L, Wang X, Zhang W. Study on developmental abnormalities in hypospadiac male rats induced by maternal exposure to di-n-butyl phthalate (DBP). *Toxicology*. 2007;232(3):286-93.

Kaufmann W, Deckardt K, McKee R, Butala J, Bahnermann. Recent Patterns of Medication Use in the Ambulatory Adult Population of the United States. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2002;36(2):175-83.

Klaunig J, Babich M, Baetcke K, Cook J, Corton J, David RM, et al. PPARalpha agonistinduced rodent tumors: modes of action and human relevance. *Critical Reviews in Toxicology*. 2003;33(6):655-780.

Koch H, Drexler H, Angerer J. An estimation of the daily intake of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) and other phthalates in the general population. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2003a;206(2):77-83.

Koch H, Lorber M, Christensen K, Pälme C, Koslitz S, Brüning T. Identifying sources of phthalate exposure with human biomonitoring: Results of a 48 h fasting study with urine collection and personal activity patterns. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2013;216(6):672-81.

Koch H, Preuss R, Angerer J. Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP): human metabolism and internal exposure – an update and latest results. *International Journal of Andrology*. 2006;29(1):155-65.

- Koch H, Rossbach B, Drexler H, Angerer J. Internal exposure of the general population to DEHP and other phthalates—determination of secondary and primary phthalate monoester metabolites in urine. *Environmental Research*. 2003b;93:177-85.
- Koch H, Angerer J, Drexler H, Eckstein R, Weisbach V. Di-(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) exposure of voluntary plasma and platelet donors. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2005b;208(6):489-98.
- Koch H, Bolt H, Preuss R, Eckstein R, Weisbach V, Angerer J. Intravenous exposure to di-(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP): metabolites of DEHP in urine after a voluntary platelet donation. *Archives of Toxicology*. 2005a;79(12):689-93.
- Kurata Y, Makinodan F, Shimamura N, Katoh M. Metabolism of di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP): comparative study in juvenile and fetal marmosets and rats. *The Journal of Toxicological Sciences*. 2012;37:33-49.
- Lamb J, Chapin R, Teague J, Lawton A, Reel J. Reproductive effects of four phthalic acid esters in the mouse. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1987;88(2):255-69.
- Larsen S, Hansen J, Hansen E, Clausen P, Nielsen G. Airway inflammation and adjuvant effect after repeated airborne exposures to di-(2-ethylhexyl)phthalate and ovalbumin in BALB/c mice. *Toxicology*. 2007;235(1-2):119-29.
- Larsen S, Hansen J, Thygesen P, Begtrup M, Poulsen O, Nielsen G. Adjuvant and immunosuppressive effect of six monophthalates in a subcutaneous injection model with BALB/c mice. *Toxicology*. 2001a;169(1):37-51.
- Larsen S, Lund R, Nielsen G, Thygesen P, Poulsen O. Di-(ethylhexyl) phthalate possesses an adjuvant effect in subcutaneous injection model with BALB/c mice. *Toxicology Letters*. 2001b;125(1-3):11-8.
- Larsen S, Nielsen G. The adjuvant effect of di-(2-ethylhexyl)phthalate is mediated through a PPARalpha-independent mechanism. *Toxicology Letters*. 2007;170(3):223-8.
- Latini G, Del Vecchio A, Massaro M, Verrotti A, De Felice C. Phthalate exposure and male infertility. *Toxicology*. 2006;226(2-3):90-8.
- Liu T, Li N, Zhu J, Yu G, Guo K, Zhou L, et al. Effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate on the hypothalamus-pituitary-ovarian axis in adult female rats. *Reproductive Toxicology*. 2014;46:141-7.
- Loff S, Kabs F, Witt K. Polyvinylchloride infusion lines expose infants to large amounts of toxic plasticizers. *Journal of Pediatric Surgery*. 2000;35(12):1775-81.
- Lovekamp-Swan T, Davis B. Mechanisms of phthalate ester toxicity in the female reproductive system. *Environmental Health Perspectives*. 2003;111(2):139-45.
- Maranghi F, Lorenzetti S, Tassinari R, Moracci G, Tassinari V, Marcocchia D, et al. In utero exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate affects liver morphology and metabolism in post-natal CD-1 mice. *Reproductive Toxicology*. 2010;29(4):427-32.
- Martinez-Arguelles D, McIntosh M, Rohlicek C, Culty M, Zirkin B, Papadopoulos V. Maternal in utero exposure to the endocrine disruptor di-(2-ethylhexyl) phthalate affects the blood pressure of adult male offspring. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2013;266(1):95-100.
- Martinez-Arguelles D, Papadopoulos V. Prenatal phthalate exposure: epigenetic changes leading to lifelong impact on steroid formation. *Andrology*. 2016;4(4):573-84.
- McKinnell C, Mitchell R, Morris K, Anderson R, Kelnar C, Wallace W, et al. Perinatal germ cell development and differentiation in the male marmoset (*Callithrix jacchus*): similarities with the human and differences from the rat. *Human Reproduction*. 2013;28(4):886-96.

McKinnell C, Saunders P, Fraser H, Kelnar C, Kivlin C, Morris K, et al. Comparison of androgen receptor and oestrogen receptor beta immunoreexpression in the testes of the common marmoset (*Callithrix jacchus*) from birth to adulthood: low androgen receptor immunoreexpression in Sertoli cells during the neonatal increase in testosterone concentrations. *Reproduction*. 2001;122:419-29.

Meeker J, Hu H, Cantonwine D, Lamadrid-Figueroa H, Calafat A, Ettinger A, et al. Urinary phthalate metabolites in relation to preterm birth in Mexico city. *Environmental Health Perspectives*. 2009;117(10):1587-92.

Millar M, Sharpe R, Weinbauer G, Fraser H, Saunders P. Marmoset Spermatogenesis: organizational similarities to the human. *International Journal of Andrology*. 2000;23(5):266-77.

Mnif W, Pascussi J, Pillon A, Escande A, Bartegi A, Nicolas J, et al. Estrogens and antiestrogens activate hPXR. *Toxicology Letters*. 2007;170(1):19-29.

Mortensen G, Main K, Andersson A-M, Leffers H, Skakkebaek N. Determination of phthalate monoesters in human milk, consumer milk, and infant formula by tandem mass spectrometry (LC-MS-MS). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2005;382(4):1084-92.

NTP-CERHR (Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction) NTP-CERHR Expert Panel Update on the Reproductive and Developmental Toxicity of Di(2-ethylhexyl) phthalate. 2005.

O'Brien M, Spear B, Glauert H. Role of oxidative stress in peroxisome proliferator-mediated carcinogenesis. *Critical Reviews in Toxicology*. 2005;35(1):61-88.

OFSP (Office fédéral de la santé publique, les phthalates, 2012. Disponible sur : https://www.bag.admin.ch/dam/bag/fr/...a-z/...phthalate.../factsheet-phthalate_fr.pdf

Parks L, Ostby J, Lambright C, Abbott B, Klinefelter G, Barlow N, et al. The plasticizer diethylhexyl phthalate induces malformations by decreasing fetal testosterone synthesis during sexual differentiation in the male rat. *Toxicological Sciences*. 2000;58(2):339-49.

Peck C, Odom D, Friedman H, Albro P, Hass J, Brady J, et al. Di-2-Ethylhexyl Phthalate (DEHP) and Mono-2-Ethylhexyl Phthalate (MEHP) Accumulation in Whole Blood and Red Cell Concentrates. *Transfusion*. 1979;19(2):137-46.

Philippat C, Mortamais M, Chevrier C, Petit C, Calafat A, Ye X, et al. Exposure to phthalates and phenols during pregnancy and offspring size at birth. *Environmental Health Perspectives*. 2012;120(3):464-70.

Plummer S, Sharpe R, Hallmark N, Mahood I, Elcombe C. Time-dependent and compartment-specific effects of in utero exposure to di(n-butyl) phthalate on gene/protein expression in the fetal rat testis as revealed by transcription profiling and laser capture microdissection. *Toxicological Sciences*. 2007;97(2):520-32.

Pollack G, Buchanan J, Slaughter R, Kohli R, Shen D. Circulating concentrations of di(2ethylhexyl) phthalate and its de-esterified phthalic acid products following plasticizer exposure in patients receiving hemodialysis. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1985;79(2):257-67.

Preau J, Wong L-Y, Silva M, Needham L, Calafat A. Variability over 1 Week in the Urinary Concentrations of Metabolites of Diethyl Phthalate and Di(2-Ethylhexyl) Phthalate among Eight Adults: An Observational Study. *Environ Health Perspect*. 2010;118(12):1748-54.

Produits chimiques cancérigènes, mutagènes, toxiques pour la reproduction [Internet]. Unité de prévention du risque chimique, Centre National de Recherche Scientifique; 2011. Disponible sur: www.prc.cnrs-gif.fr

Pugh G, Isenberg J, Kamendulis L, Ackley D, Clare L, Brown R, et al. Effects of Di-isononyl Phthalate, Di-2-ethylhexyl Phthalate, and Clofibrate in Cynomolgus Monkey. *Toxicological Sciences*. 2000;56(1):181-8.

Rajpert-De Meyts E. Developmental model for the pathogenesis of testicular carcinoma in situ: genetic and environmental aspects. *Human Reproduction Update*. 2006;12(3):303-23.

Reddy J, Rao M. Oxidative DNA damage caused by persistent peroxisome proliferation: its role in hepatocarcinogenesis. *Mutation Research*. 1989;214(1):63-8.

Rhodes C, Orton T, Pratt I, Batten P, Bratt H, Jackson S, et al. Comparative pharmacokinetics and subacute toxicity of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in rats and marmosets: extrapolation of effects in rodents to man. *Environmental Health Perspectives*. 1986;65:299-307.

Rock G, Secours V, Franklin C, Chu I, Villeneuve D. The Accumulation of Mono-2-Ethylhexylphthalate (MEHP) During Storage of Whole Blood and Plasma. *Transfusion*. 1978;18(5):553-8.

Rose R, Priston M, Rigby-Jones A, Sneyd J. The effect of temperature on di(2-ethylhexyl) phthalate leaching from PVC infusion sets exposed to lipid emulsions. *Anaesthesia*. 2012;67(5):514-20.

Rudel R, Gray J, Engel C, Rawsthorne T, Dodson R, Ackerman J, et al. Food Packaging and Bisphenol A and Bis(2-Ethylhexyl) Phthalate Exposure: Findings from a Dietary Intervention. *Environ Health Perspect*. 2011;119(7):914-20.

Rusyn I, Denissenko M, Wong V, Butterworth B, Cunningham M, Upton P, et al. Expression of base excision repair enzymes in rat and mouse liver is induced by peroxisome proliferators and is dependent upon carcinogenic potency. *Carcinogenesis*. 2000a;21(12):2141-5.

Rusyn I, Rose M, Bojes H, Thurman R. Novel role of oxidants in the molecular mechanism of action of peroxisome proliferators. *Antioxid Redox Signal*. 2000b;2(3):607-21.

Salloum H, Saunier J, Tfayli A, Yagoubi N. Studying DEHP migration in plasticized PVC used for blood bags by coupling Raman confocal microscopy to UV spectroscopy. 2016;61:56-62.

Sampson J, de Korte D. DEHP-plasticised PVC: relevance to blood services. *Transfusion Medicine*. 2011;21:73-83.

Sarath Josh M, Pradeep S, Balachandran S, Sudha Devi R, Vijayalakshmi Amma K, Sailas B. Temperature- and solvent-dependent migrations of di(2-ethylhexyl)phthalate, the hazardous plasticizer from commercial PVC blood storage bag. *Journal of Polymer Research*. 2012;19:9915.

SCENIHR Scientific Committee on Emerging and Newly-Identified Health Risks, Opinion on the safety of medical devices containing DEHP- plasticized PVC or other plasticizers on neonates and other groups possibly at risk (2015 update). European Commission; 2016.

Schmid P, Schlatter C. Excretion and metabolism of di(2-ethylhexyl)-phthalate in man. *Xenobiotica*. 1985;15(3):251-6.

Seo K, Kim K, Kim Y, Choi J, Lee K, Choi K. Comparison of oxidative stress and changes of xenobiotic metabolizing enzymes induced by phthalates in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2004;42(1):107-14.

Silva MJ, Reidy JA, Preau Jr JL, Samandar E, Needham LL, Calafat AM. Measurement of eight urinary metabolites of di(2-ethylhexyl) phthalate as biomarkers for human exposure assessment. 2006;11:1-13.

Silva MJ, Reidy J, Herbert A, Preau J, Needham L, Calafat A. Detection of Phthalate Metabolites in Human Amniotic Fluid. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2004;72(6):1226-31.

Silva MJ, Samandar E, Preau JL, Needham LL, Calafat AM. Urinary oxidative metabolites of di(2-ethylhexyl) phthalate in humans. *Toxicology*, 2006;219(1-3):22-32.

Sjoberg P, Bondesson U, Sedin G, Gustafsson J. Dispositions of di- and mono-(2-ethylhexyl) phthalate in newborn infants subjected to exchange transfusions. 1985;15:430-6.

- Smith J, Aitchison J. Peroxisomes take shape. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2013;14:803-17.
- Srivastava S, Awasthi V, Srivastava S, Seth P. Biochemical alterations in rat fetal liver following in utero exposure to di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP). *Indian Journal of Experimental Biology*. 1989;27(10):885-8.
- Suzuki Y, Yoshinaga J, Mizumoto Y, Serizawa S, Shiraishi H. Foetal exposure to phthalate esters and anogenital distance in male newborns. *International Journal of Andrology*. 2012;35(3):236-44.
- Swan S, Main K, Liu F, Stewart S, Kruse R, Calafat A, et al. Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. *Environmental Health Perspectives*. 2005;113(8):106-61.
- Takano H, Yanagisawa R, Inoue K, Ichinose T, Sadakane K, Yoshikawa T. Di-(2-ethylhexyl) Phthalate Enhances Atopic Dermatitis-Like Skin Lesions in Mice. *Environmental Health Perspectives*. 2006;114(8):1266-9.
- Takatori S, Okamoto Y, Kitagawa Y, Hori S, Izumi S-I, Makino T, et al. Simulated neonatal exposure to DEHP and MEHP from PVC enteral nutrition products. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008;352(1-2):139-45.
- Thompson C, Ross S, Gaido K. Di(n-butyl) phthalate impairs cholesterol transport and steroidogenesis in the fetal rat testis through a rapid and reversible mechanism. *Endocrinology*. 2004;145(3):1227-37.
- Tickner J, Schettler T, Guidotti T, McCally M, Rossi M. Health risks posed by use of Di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) in PVC medical devices: A critical review. *American Journal of Industrial Medicine*. 2001;39:100-11.
- Tomonari Y, Kurata Y, David RM, Gans G, Kawasuso T, Katoh M. Effect of Di(2-Ethylhexyl) Phthalate (DEHP) on Genital Organs from Juvenile Common Marmosets: I. Morphological and Biochemical Investigation in 65-Week Toxicity Study. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 2006;69(17):1651-72.
- Veiga M, Bohrer D, Nascimento P, Ramirez A, Carvalho L, Binotto R. Migration of phthalate-based plasticizers from PVC and non-PVC containers and medical devices. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2012;23(1).
- Whyatt R, Adibi J, Calafat A, Camann D, Rauh V, Bhat H, et al. Prenatal Di(2-ethylhexyl) Phthalate Exposure and Length of Gestation Among an Inner-City Cohort. *Pediatrics*. 2009;124(6).
- Whyatt R, Xinhua L, Rauh V, Calafat A, Just A, Hoepner L, et al. Maternal Prenatal Urinary Phthalate Metabolite Concentrations and Child Mental, Psychomotor and Behavioral Development at 3 Years of Age. *Environmental Health Perspectives*. 2012;120(2):290-5.
- Wittassek M, Heger W, dKoch H, Becker K, Angerer J, Kolossa-Gehring M. Daily intake of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) by German children - A comparison of two estimation models based on urinary DEHP metabolite levels. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2007;210:35-42.
- Wolff M, Engel S, Berkowitz G, Ye X, Silva M, Zhu C, et al. Prenatal phenol and phthalate exposures and birth outcomes. *Environmental Health Perspectives*. 2008;116(8):1092-7.
- Yeldani A, Milano M, Subbarao V, Reddy J, Rao M. Evaluation of liver cell proliferation during ciprofibrate-induced hepatocarcinogenesis. *Cancer Letters*. 1989;47(1-2):21-7.
- Zhu J, Philips S, Feng Y-L, Yang X. Phthalate Esters in Human Milk: Concentration Variations over a 6-Month Postpartum Time. *Environmental Science & Technology*. 2006;40(17):5276-81.