

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ FERHAT ABBAS SETIF 1

FACULTÉ DE MÉDECINE



DÉPARTEMENT DE PHARMACIE

**Evaluation de l'exposition des enfants de moins de 36 mois aux phtalates
(di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) et di-*iso*-nonyl phthalate (DINP))
via les jouets en plastique type polychlorure de vinyle souple (PVC)
commercialisés dans la région du Nord Algérien**

**THESE
POUR OBTENIR LE DIPLOME
DE DOCTORAT EN SCIENCES MEDICALES**

**Soutenue par : Assia YAMOUN
Maitre assistante Hospitalo-Universitaire en Toxicologie**

Soutenue publiquement le : 23 Juin 2024

**Directeur de thèse : Professeur Rachid DJAFER
Co-directrice de thèse : Professeure Sabah BENBOUDIAF**

Jury d'évaluation :

P^r Slimane LAOUAMRI

P^r Khaled SOBHI

P^r Mohamed Habib BELMAHI

Président

Membre

Membre

Faculté de médecine de Sétif

Faculté de médecine d'Alger

Faculté de médecine de Constantine

Année universitaire 2023-2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَالْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي
كَرَّمَنَا بِكَرَامَتِكَ
وَالْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي
كَرَّمَنَا بِكَرَامَتِكَ
وَالْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي
كَرَّمَنَا بِكَرَامَتِكَ

وَأَنْ أَعْمَلَ صَالِحًا تَرْضَاهُ وَأَدْخِلْنِي بِرَحْمَتِكَ
فِي عِبَادِكَ الصَّالِحِينَ

Remerciements

A mon directeur de thèse le Professeur DJAFER Rachid,

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude pour votre accompagnement inestimable tout au long de mon parcours de thèse. Votre expertise, votre patience et votre dévouement ont joué un rôle essentiel dans la réussite de cette aventure académique.

Votre guidance éclairée, vos conseils précieux et votre soutien constant ont été des piliers indispensables qui m'ont permis de surmonter les défis inhérents à la recherche et d'atteindre mes objectifs académiques.

Je tiens également à souligner la qualité de l'environnement de travail que vous avez créé, propice à l'épanouissement intellectuel et à l'échange constructif.

Par la même occasion, je tiens à saluer votre qualité humaine et sociale exceptionnelle, car c'est de personnalités telles que la vôtre que l'on tire les plus grandes leçons, bien plus que des livres. Ces années de recherche sous votre direction resteront une période charnière de ma vie académique, et je suis reconnaissante de l'avoir vécue sous votre encadrement.

C'est avec une profonde reconnaissance que je termine ce chapitre de ma vie académique.

A madame, la Professeure BENBOUDIAF Sabah,

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude envers vous, pour votre soutien indéfectible, votre expertise et votre guidance tout au long de cette recherche.

Vous m'avez constamment inspirée à atteindre l'excellence, à repousser mes limites et à explorer de nouvelles perspectives de recherche.

Vos précieux conseils, vos discussions stimulantes et votre disponibilité inlassable ont grandement enrichi mon expérience doctorale.

Votre passion pour votre domaine, votre disponibilité et votre enthousiasme ont été une source d'inspiration quotidienne.

Avec toute ma gratitude.

A Monsieur, le Professeur LAOUAMRI Slimane,

Je tiens à vous adresser mes plus sincères remerciements pour le rôle prépondérant que vous avez joué en tant que Président du jury. Votre présence, votre expertise et votre implication ont grandement contribué à la réussite de cet événement académique crucial.

Vos commentaires constructifs ont été inestimables pour moi et ont contribué à consolider la qualité de ma thèse.

Je suis profondément honorée d'avoir eu l'opportunité de bénéficier de votre expertise et de votre jugement éclairé.

Je vous adresse mes plus vifs remerciements pour votre dévouement et votre engagement envers l'excellence académique.

Je vous prie d'accepter, cher Professeur, l'expression de ma profonde reconnaissance.

A Monsieur, le Professeur SOBHI Khaled,

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude pour votre précieuse contribution en tant que membre du jury de ma thèse. Votre expertise, vos commentaires éclairés et votre engagement ont grandement enrichi le processus d'évaluation de mon travail de recherche.

Votre participation active a été une source d'inspiration et a contribué à façonner et à améliorer la qualité de ma thèse. J'apprécie grandement le temps et l'attention que vous avez consacrés à évaluer mon travail.

Je vous prie d'accepter, cher Professeur, l'expression de ma profonde reconnaissance.

A Monsieur, le Professeur BELMAHI Mohamed Habib,

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude pour la confiance que vous m'avez témoignée en acceptant de superviser ce modeste travail. Votre confiance, votre patience, et votre soutien inestimables, ainsi que vos orientations et conseils judicieux, ont été les piliers essentiels qui m'ont permis d'approfondir mes connaissances et de développer mes compétences en recherche. En tant qu'un de vos anciens étudiants, je mesure la chance d'avoir eu l'opportunité de bénéficier de votre enseignement et de votre mentorat.

Je vous adresse mes plus sincères remerciements pour l'impact significatif que vous avez eu sur ma formation et mon développement académique.

Je vous prie d'accepter, cher Professeur, l'expression de ma profonde reconnaissance.

À mes collaborateurs (P^r LAKEHAL Abdelhak et P^r KAARAR Nadjib),

Cette thèse est dédiée à vous, mes collaborateurs exceptionnels. Votre engagement, votre expertise et votre collaboration ont contribué de manière significative à la réalisation de ce travail. Chacun de vous a apporté une perspective unique et une énergie positive à ce travail. Merci pour les heures de travail acharné, les discussions enrichissantes et l'esprit d'équipe qui a rendu cette expérience académique plus riche.

Avec gratitude.

Dédicace

À ma chère mère « Soraya »,

Ta force, ton amour inconditionnel et ton soutien indéfectible ont été les piliers qui ont soutenu chaque page de cette thèse. Tu es la source de mon inspiration et de ma détermination. Ce travail t'est dédié avec une profonde gratitude pour tous les sacrifices que tu as faits pour nous. Merci pour ton encouragement constant et ta foi en mes capacités. Cette réussite t'appartient autant qu'à moi.

Avec tout mon amour.

À la mémoire de mon grand-père bien-aimé « Beba Said »,

Bien que tu ne sois plus physiquement présent, ton amour, tes enseignements et ton soutien continuent d'illuminer ma vie. Chaque mot de cette thèse résonne avec les valeurs que tu m'as inculquées, et chaque réussite que je célèbre est teintée de ton influence positive. Sans toi, ma réussite ne serait pas possible. Grâce à toi, Beba, j'ai surmonté les défis et atteint ces sommets académiques. Même en ton absence, cette dédicace est un hommage à l'héritage que tu as laissé et à l'amour qui persiste dans mon cœur.

À jamais reconnaissante.

A mon conjoint, mon chouchou « Rochdi »,

Ta patience, ton amour, et ton inébranlable encouragement ont été le vent qui a gonflé les voiles de ma poursuite académique. Les longues heures que j'ai consacrées à la recherche et à la rédaction n'auraient pas été les mêmes sans ton soutien indéfectible. Ton écoute bienveillante, ton réconfort en période de stress, et ta compréhension des sacrifices que cela implique ont été essentiels pour que je puisse poursuivre mes rêves.

En cette étape cruciale de ma vie, je veux te remercier pour avoir partagé ce voyage long et difficile avec moi. Ta croyance en moi a été une source constante de motivation, et je suis infiniment reconnaissante pour tout ce que tu as fait et sacrifié pour que je puisse atteindre mes objectifs.

Ce diplôme n'est pas seulement le mien, il est aussi le tien, car tu as été à mes côtés à chaque étape. Ta présence dans ma vie est mon plus grand trésor.

Avec tout mon amour et ma gratitude sincère.

À mes chers petits trésors, mes enfants « Anes, Maria et Kenzy »,

Même si vous êtes encore petits pour comprendre pleinement ce que signifie cette thèse, je tiens à vous exprimer ma gratitude du fond du cœur. Votre présence dans ma vie a été ma plus grande motivation et source de bonheur. Chacun de vous, à sa manière, m'a guidé dans le choix de ce sujet de thèse. Vos premières années de vie, marquées par l'apprentissage, la curiosité et l'exploration constante, m'ont rappelé à quel point le processus d'apprentissage est fondamental. Votre insatiable soif de découverte et votre capacité à voir le monde avec des yeux neufs m'ont inspiré à explorer des questions qui cherchent à comprendre et à améliorer notre compréhension du monde.

Chaque sourire, chaque éclat de rire, et chaque petit pas que vous avez accomplis au cours de ces années m'ont rappelé l'importance de la vie et de la simplicité. Votre capacité à m'émerveiller avec les découvertes quotidiennes et à m'apporter une joie pure a été une bouffée d'air frais au milieu des longues heures de travail.

Je sais que parfois j'ai dû m'absenter pour étudier, mais je veux que vous sachiez que chacun de mes efforts était motivé par le désir de vous offrir un avenir meilleur. Vous êtes ma plus grande source d'inspiration, et je suis honorée d'être votre maman.

Sachez que ce diplôme, que nous célébrons aujourd'hui, est aussi le vôtre. C'est un symbole de l'amour, du dévouement, et des espoirs que je mets dans notre avenir ensemble. Nous allons continuer à grandir, apprendre et célébrer la vie en famille.

Je vous aime plus que tout au monde, et je suis impatiente de continuer à créer des souvenirs précieux avec vous.

Avec tout mon amour.

À mon cher frère « Minou » et mes sœurs adorées « Amel, Sara et Meriem »,

Cette thèse est dédiée à chacun de vous, des piliers solides qui ont soutenu chacune de mes aspirations. Votre amour, votre encouragement et votre compréhension ont été une source infinie de force. Chaque étape de ce parcours académique a été enrichie par votre présence et votre soutien indéfectible. Merci pour les moments partagés, les rires partagés, et surtout, pour le lien familial qui demeure mon plus grand trésor.

Avec tout mon amour.

À mes chers neveux et nièces « Céline, Bissane, Sabine, Chahine et Amir »,

Cette thèse est dédiée à vous, les lumières de ma vie. Votre présence joyeuse et vos rires ont apporté une dimension spéciale à chaque moment de cette aventure académique. Puissiez-vous trouver dans ces pages l'expression de mon engagement envers l'apprentissage et la recherche, avec l'espoir que cela puisse inspirer vos propres parcours. Merci de faire partie de ma vie et de partager cette réussite avec moi.

Avec tout mon amour.

À mon amie extraordinaire et dévouée,

Cette thèse est une humble reconnaissance de la lumière que tu as apportée dans ma vie académique. Ton soutien inébranlable, tes conseils judicieux et ta présence constante ont été des sources d'inspiration. Chaque page de ce travail reflète non seulement mes efforts, mais aussi la marque indélébile de ton influence positive. Merci pour ta générosité, ton amitié sincère, et pour avoir été un pilier inestimable tout au long de ce parcours.

Cette thèse n'aurait pas été la même sans ton aide précieuse. Ton soutien a fait une différence significative. Ensemble, nous avons relevé ce défi académique, et je suis honorée d'avoir une amie aussi dévouée à mes côtés. Merci infiniment pour tout.

Avec une profonde gratitude.

À mes amis toxicologues « Khaoula la sagesse, Amine la générosité »,

Cette thèse est dédiée à chacun de vous pour vos encouragements constants et les précieux souvenirs que nous avons partagés tout au long de ce parcours. Khaoula, tu incarnes la sagesse qui a éclairé mes choix. Amine, ta générosité m'a inspiré à donner le meilleur de moi-même. Merci de faire partie de cette aventure, et cette dédicace symbolise notre amitié qui transcende le domaine professionnel.

Avec reconnaissance et beaucoup d'amour.

À mes chers collègues et amies « Faiza, Leila et Hiba »,

Cette thèse est dédiée à chacun de vous, des collègues extraordinaires qui ont enrichi mon parcours académique et professionnel. Merci pour les échanges fructueux, les défis relevés ensemble, et la camaraderie qui a rendu ce voyage aussi mémorable.

À tout le personnel du Service de Toxicologie du CHU de Sétif, ainsi qu'à l'ingénieur de laboratoire de Toxicologie « **Sabrina** », et de chimie analytique « **Mr Azzi** » au sein du département de pharmacie. Cette thèse est dédiée à vous tous, une équipe exceptionnelle qui a été le socle de mon expérience de recherche. Un remerciement particulier à « **M^{me} Setifi** » pour son soutien et son aide. Cette dédicace témoigne de ma gratitude envers chacun d'entre vous, qui a contribué de manière significative à cette réussite.

Avec respect.

A toute l'équipe du **TTS** en Tunisie, plus particulièrement madame « **Rahma** », votre générosité est inestimable. Ce travail n'aurait pas été possible sans votre aide.

À jamais reconnaissante.

À mes enseignants,

Cette thèse est dédiée à chacun de vous, guides dévoués qui ont illuminé le chemin de mon apprentissage depuis mes premières années. Vos leçons et votre passion pour l'éducation ont façonné la personne que je suis aujourd'hui. Cette dédicace symbolise ma gratitude éternelle envers vous tous, qui avez semé les graines du savoir dans mon esprit.

Avec profonde reconnaissance.

A la science,

Je dédie humblement ce travail. Qu'il puisse contribuer, même modestement, à l'expansion des connaissances et à l'avancement du savoir. Puissent les résultats présentés ici enrichir notre compréhension et ouvrir de nouvelles perspectives dans le domaine de la Toxicologie.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS	xx
LISTE DES FIGURES	xxiv
LISTE DES TABLEAUX	xxviii
INTRODUCTION GENERALE	1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I. GENERALITES SUR LES JOUETS	8
I.1. DEFINITION D'UN JOUET	9
I.1.1. Définition selon la réglementation algérienne	9
I.1.2. Définition selon la réglementation européenne	9
I.2. CLASSIFICATION DES JOUETS	9
I.2.1. Classification selon le risque potentiel	9
I.2.2. Classification selon le type de jouet	10
I.2.3. Classification selon la matière de fabrication	11
I.2.4. Classification selon l'âge d'utilisation du jouet	11
I.3. ETAT DES LIEUX SUR LE MARCHE DES JOUETS	12
I.4. JOUETS EN PVC	14
I.5. ADDITIFS DANS LES JOUETS EN PVC	15
CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES	17
II.1. HISTORIQUE	18
II.2. STRUCTURE CHIMIQUE	19
II.3. PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES	21
II.4. UTILISATIONS ET SOURCES D'EXPOSITION	23
II.4.1. Utilisation en tant que plastifiants	23
II.4.2. Autres utilisations	25
II.5. VOIES D'EXPOSITION	25
II.5.1. Par inhalation	25
II.5.2. Par ingestion	26
II.5.3. Par contact cutané	26
II.6. TOXICOCINETIQUE	28
II.6.1. Absorption	28
II.6.2. Distribution	28
II.6.3. Métabolisme	28

II.6.4. Élimination	31
II.7. MECANISME D’ACTION TOXIQUE	32
II.7.1. Mécanisme d’action moléculaire	32
II.7.2. Modulation épigénétique	35
II.7.3. Action sur le système reproducteur mâle et femelle	37
II.7.4. Induction du cancer	39
II.7.5. Diabète de type 2 (DT2)	40
II.7.6. Surpoids et obésité	41
II.7.7. Allergies et asthme	42
II.7.8. Action sur l’axe hypothalamus-pituitaire-thyroïde	43
II.8. EFFETS DES PHTALATES SUR LA SANTE DE L’ENFANT	44
II.8.1. Diabète, résistance à l’insuline	46
II.8.2. Surpoids et obésité	46
II.8.3. Allergies et asthme	48
II.8.4. Troubles du spectre autistique (TSA) et comportement cognitif	48
II.8.5. Neurodéveloppement et trouble de déficit de l’attention avec hyperactivité (TDAH)	49
II.8.6. Atteinte du système cardio-vasculaire	49
II.8.7. Cancer	51
II.8.8. Effets sur le système reproducteur mâle et femelle	52
CHAPITRE III. REGLEMENTATION DES PHTALATES DANS LES JOUETS	61
III.1. INTERNATIONALE	62
III.2. NATIONALE	63
CHAPITRE IV. EVALUATION DE L’EXPOSITION DES ENFANTS DE MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS	64
IV.1. VULNERABILITE DES ENFANTS AUX PHTALATES	65
IV.1.1. Caractéristiques physiologiques de l’enfant de moins de 36 mois	66
IV.1.2. Caractéristiques comportementales de l’enfant de moins de 36 mois	67
IV.2. SCENARIOS D’EXPOSITION AUX PHTALATES VIA LE JOUET CHEZ LES ENFANTS DE MOINS DE 36 MOIS	70
IV.2.1. Principaux scénarios d’exposition aux substances toxiques <i>via</i> les jouets	70
IV.2.2. Identification des scénarios d’exposition pertinents aux phtalates à partir	72

des jouets destinés aux enfants de moins de 36 mois

IV.3. FORMULES ET VARIABLES POUR L'EVALUATION DE L'EXPOSITION	73
IV.3.1. Paramètres primaires	78
IV.3.2. Paramètres secondaires	80
IV.4. EVALUATION DE L'EXPOSITION	81
IV.5. VALEURS TOXICOLOGIQUES DE REFERENCES (VTR)	83
IV.5.1. La dose drivée sans effet (DNEL)	83
IV.5.2. La dose journalière tolérable (DJT)	84
IV.6. CARACTERISATION DU RISQUE	86
CHAPITRE V. ANALYSE DES PHTALATES	87
V.1. PREPARATION DE L'ECHANTILLON	88
V.2. TECHNIQUES D'EXTRACTION	89
V.3. APPROCHES ANALYTIQUES	90
V.3.1. Chromatographie en phase gazeuse	90
V.3.2. Chromatographie liquide	91
PARTIE PRATIQUE	
CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES	95
I.1. ZONE DE L'ÉTUDE	96
I.2. TYPE DE L'ÉTUDE	97
I.3. ÉCHANTILLONAGE	97
I.3.1. Type d'échantillonnage	97
I.3.2. Taille de l'échantillon	97
I.4. CRITÈRES D'INCLUSION ET DE NON INCLUSION	97
I.4.1. Critères d'inclusion	99
I.4.2. Critères de non inclusion	99
I.5. CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS	99
I.6. SAISIE DES DONNÉES	100
I.7. REACTIFS, MATERIEL ET APPAREILLAGE	100
I.7.1. Réactifs	100
I.7.2. Matériels	101
I.7.3. Appareillage	101
I.8. PARAMÈTRES ÉTUDIÉS	103

I.8.1. Identification de la nature chimique du polymère	103
I.8.2. Mise au point et optimisation d'une technique de dosage de DEHP et DINP dans les jouets en plastique	107
I.8.3. Validation de la méthode de dosage des phtalates (DEHP, DINP) dans les jouets en plastique	111
I.8.4. Détermination des taux de phtalates (DEHP/ DINP) dans les jouets en pvc (essais de composition)	115
I.8.5. Essai de migration salivaire <i>in vitro</i>	124
I.8.6. Essai de migration salivaire <i>in vivo</i>	129
I.8.7. Evaluation de l'exposition des enfants de moins de 36 mois aux DEHP et DINP	131
I.8.8. Caractérisation des risques	134
I.9. TRAITEMENT DES DONNÉES ET ANALYSES STATISTIQUES	134
CHAPITRE II. RESULTATS	137
II.1. CARACTÉRISTIQUES DE LA POPULATION ÉTUDIÉE	138
II.1.1. Répartition des jouets sélectionnés selon la wilaya de provenance	138
II.1.2. Répartition des jouets sélectionnés selon le pays d'origine	138
II.1.3. Répartition des jouets sélectionnés selon le type de jouets	138
II.1.4. Répartition des jouets sélectionnés selon le prix d'achat	139
II.2. IDENTIFICATION DE LA NATURE CHIMIQUE DU POLYMERE	139
II.2.1. Répartition des jouets sélectionnés selon les résultats du test de flamme	139
II.2.2. Répartition des jouets sélectionnés selon les résultats de l'analyse IR	139
II.2.3. Fréquence relative des jouets en PVC commercialisés dans la région du Nord Algérien	141
II.2.4. Caractéristiques des jouets en PVC souple commercialisés dans la région du Nord Algérien	141
II.2.5. Comparaison entre les deux techniques d'identification du polymère (test de flamme et spectroscopie IR)	142
II.3. MISE AU POINT ET OPTIMISATION D'UNE TECHNIQUE DE DOSAGE DE DEHP ET DINP DANS LES JOUETS EN PLASTIQUE	143
II.3.1. Désignation du temps de rétention (Tr) et obtention des spectres de masse	143
II.3.2. Optimisation des paramètres de la méthode GC et la méthode masse	147
II.3.3. Détermination du rendement de l'extraction	148
II.3.4. Vérification de l'effet matrice	148

II.4. VALIDATION DE LA METHODE DE DOSAGE DES PHTALATES (DEHP, DINP) DANS LES JOUETS EN PLASTIQUE	150
II.4.1. Sélectivité	150
II.4.2. Fonction de réponse (courbe d'étalonnage)	151
II.4.3. Estimation de la limite de quantification et la limite de détection	153
II.4.4. Courbes des trois jours de validation	154
II.4.5. Linéarité	161
II.4.6. Exactitude	163
II.4.7. Sensibilité	166
II.4.8. Profil d'exactitude	167
II.5. DETERMINATION DES TAUX DE PHTALATES (DEHP/ DINP) DANS LES JOUETS EN PVC SOUPLE (ESSAIS DE COMPOSITION)	169
II.5.1. Analyse descriptive	169
a. Détermination des taux de phtalates dans les jouets en PVC souple	169
b. Comparaison des taux de phtalates aux normes internationales	173
II.5.2. Analyse inférentielle	183
a. Comparaison de la proportion des jouets non conformes en fonction de prix d'achat	183
b. Comparaison de la proportion des jouets non conformes en fonction de type de jouets	183
c. Comparaison de la proportion des jouets contenant le DEHP et DINP ensemble	184
II.6. ESSAI DE MIGRATION SALIVAIRE <i>IN VITRO</i>	184
II.6.1. Analyse descriptive	184
a. Taux de migration salivaire des phtalates <i>in vitro</i>	184
b. Comparaison des taux de migration des phtalates <i>in vitro</i> aux valeurs guides	189
II.6.2. Analyse inférentielle	191
a. Etude de la corrélation entre le taux de phtalate type DEHP et le taux de migration <i>in vitro</i> (n=44)	191
b. Etude de la corrélation entre le taux de phtalate type DINP et le taux de migration <i>in vitro</i> (n=6)	192
II.7. ESSAI DE MIGRATION SALIVAIRE <i>IN VIVO</i>	194
II.7.1. Analyse descriptive	194
a. Taux de migration salivaire des phtalates <i>in vivo</i>	194

b. Comparaison des taux de migration des phtalates <i>in vivo</i> aux valeurs guides	198
II.7.2. Analyse inférentielle	200
a. Etude de la corrélation entre le taux de phtalate type DEHP et le taux de migration <i>in vivo</i> (n=24)	200
b. Etude de la corrélation entre le taux de phtalate type DINP et le taux de migration <i>in vivo</i> (n=4)	201
c. Etude de la corrélation entre le taux de migration de DEHP <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>	203
d. Etude de la corrélation entre le taux de migration de DINP <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>	205
e. Comparaison de la moyenne de migration de DEHP <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i>	206
f. Comparaison de la moyenne de migration de DINP <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i>	207
II.8. EVALUATION DES EXPOSITIONS	207
II.8.1. Evaluation de l'exposition des enfants de moins de 36 mois au DEHP	207
II.8.2. Evaluation de l'exposition des enfants de moins de 36 mois au DINP	208
II.8.3. Comparaison de la DJE moyenne de DEHP dans les trois groupes d'âge	209
II.8.4. Comparaison de la DJE moyenne de DINP dans les trois groupes d'âge	210
II.8.5. Comparaison des DJE avec la norme DJA	211
II.9. CARACTERISATION DU RISQUE	211
CHAPITRE III. DISCUSSION	214
III.1. IDENTIFICATION DE LA NATURE CHIMIQUE DU POLYMERE	217
III.2. COMPARAISON DE DEUX TECHNIQUES D'IDENTIFICATION DES POLYMÈRES TYPE PVC	219
III.3. DETERMINATION DES TAUX DE PHTALATES (DEHP/ DINP) DANS LES JOUETS EN PVC (ESSAIS DE COMPOSITION)	220
III.3.1. Détermination des taux de phtalates dans les jouets en PVC souple	220
III.3.2. Comparaison des taux de phtalates aux normes internationales	225
III.4. ESSAI DE MIGRATION SALIVAIRE <i>IN VITRO</i>	232
III.4.1. Taux de migration salivaire des phtalates <i>in vitro</i>	232
III.4.2. Comparaison des taux de migration des phtalates <i>in vitro</i> aux valeurs guides	233
III.4.3. Corrélation entre le taux de phtalates dans les jouets et la migration <i>in vitro</i>	235
III.5. ESSAI DE MIGRATION SALIVAIRE <i>IN VIVO</i>	241
III.5.1. Taux de migration salivaire des phtalates <i>in vivo</i>	242
III.5.2. Comparaison des taux de migration des phtalates <i>in vivo</i> aux valeurs guides	244
III.5.3. Corrélation entre le taux de phtalates dans les jouets et la migration <i>in vivo</i>	244

III.5.4. Comparaison entre la migration salivaire des phtalates <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i>	245
III.6. EVALUATION DES EXPOSITIONS ET CARACTERISATION DU RISQUE	247
CONCLUSION GENERALE	256
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	xxxii
ANNEXE	xlvii
RESUME	lx

LISTE DES ABREVIATIONS

A

ABS	Poly acrylonitrile butadiène styrène
AhR	Récepteurs d'hydrocarbures aryliques
AJ	Apport journalier
AMP _c	Adénosine monophosphate cyclique
ANOVA	Analyse de la variance à un facteur
Arnt	Translocateur nucléaire AhR
ASE	Extraction accélérée par solvant
ATSDR	Agence pour les substances toxiques et le registre des maladies
Axe HPG	Axe hypothalamo-hypophyso-gonadique

B

BAR	Récepteur de l'acide biliaire
BB	Benzyl benzoate
BBP	Benzyl butyl phthalate
BPF	Bonnes pratiques de fabrication

C

C	Concentration
CACQE	Laboratoires de la répression des fraudes du centre algérien du contrôle de la qualité et de l'emballage
CAR	Récepteur constitutif d'androstane
CE	Conformité européenne
CEH	Cycle entéro-hépatique
CEN	Commission européenne de normalisation
CI	Ionisation chimique
CPSC	Commission de la sécurité des produits de consommation
CPSIA	Amélioration de la sécurité des produits de consommation
CQE	Contrôle qualité externe
CV	Coefficients de variation

D

DA	Dinar algérien
DBP	Di-n-butyl phthalate
DCM	Dichlorométhane
DEHP	Bis-(2-ethylhexyl) phthalate
DEP	Phtalate de diéthyle
DIBP	Di- <i>iso</i> -butyl phthalate
DEPA	Agence danoise de protection de l'environnement
DIDP	Di- <i>iso</i> -decyl phtalate
DINP	Di- <i>iso</i> -nonyl phthalate
DJE	Dose journalière d'exposition
DJT	Dose journalière tolérable
DLLME	Microextraction liquide-liquide dispersive
DMP	Diméthyl phtalate
DNOP	Di-n-octyl phthalate
DT2	Diabète de type 2

E

E	Etalon
EA	Coopération européenne pour l'accréditation
ECHA	Agence européenne des produits chimiques
EFSA	Autorité européenne de sécurité des aliments

EI	Etalon interne
EMEA	Agence européenne des médicaments
EP	Epoxydes
EPA	Agence de protection de l'environnement
ER	Récepteur des œstrogènes
EVA	Polyacétate de vinyle
F	
<i>FABP</i>	Protéine de liaison aux acides gras
FDA	Administration des aliments et des médicaments
FID	Détecteur à ionisation de flamme
<i>FT4</i>	Thyroxine libre
<i>FXR</i>	Récepteur du X des farnésoïdes
G	
GC-MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
GC-MS/MS	Chromatographie gazeuse-spectrométrie de masse en tandem
<i>Glut4</i>	Transporteur de glucose
H	
h	Heure
HDL	Cholestérol
He	Hélium
<i>hERα</i>	Récepteur humain d'œstrogène ER α
HI	Hazard indice
HOH	Head over Heels
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance
<i>HSA</i>	Albumine sérique humaine
<i>HSP</i>	Protéine de choc thermique
I	
IC	Intervalles de confiance
ICH	Conseil international d'harmonisation des exigences techniques pour l'enregistrement des médicaments à usage humain
ID	Ions d'identification
ID GC/MS	Chromatographie en phase gazeuse à dilution isotopique/ spectrométrie de masse
<i>Igf-3</i>	Facteur de croissance 3 analogue à l'insuline
<i>Igf2r</i>	Récepteur 2 du facteur de croissance analogue à l'insuline
ILAC	Coopération internationale pour l'accréditation des laboratoires
INSERM	Institut national de la santé et de la recherche médicale
IR	Spectroscopie infrarouge
IR-ATR	Spectromètre infrarouge à réflexion totale atténuée
IR-FTIR	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
ISO	Organisation internationale de normalisation
J	
J	Jour
JRC	Joint Research Center
K	
kg	Kilogramme
L	
L	Litre
LBP	Laboratoire de recherche de biopharmacie et pharmacotechnie
LD	Limite de détection
LLE	Extraction liquide-liquide

LQ	Limite de quantification
LRB	Blanc de réactif de laboratoire
M	
MBP	Mono-butyl phthalate
MBzP	Mono-benzylphthalate
MCMHP	Mono(2-carboxy-hexyl) phthalate
MCPP	Mono-(3-carboxypropyl) phthalate
MCV	Maladies cardiovasculaires
MDR	Portail de résistance multidroque
MEP	Mono-ethylphthalate
MECPP	Mono-(2-ethyl-5-carboxypentyl) phthalate
MEHHP	Mono (2-ethyl-5-hydroxyhexyl) phthalate
MEHP	Mono-2-ethylhexyl phtalate
MEOHP	Mono(2-ethyl-5-oxohexyl) phthalate
MiBP	Mono- <i>iso</i> -butyl phthalate
Min	Minute
MiNP	Mono- <i>iso</i> -nonyl phthalates
MMP	Mono-methyl phthalate
MnBP	Mono-n-butyl phthalate
MRC	Matériel de référence certifié
MRLc	Chronic Minimal Risk Level
MRM	Contrôle de la réaction multiple
MSPE	Extraction en phase solide magnétique
N	
NIS	Symporteur d'iodure de sodium
NMIJ	Institut national de métrologie du Japon
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level
NPD	Journal national des achats
O	
OCDE	Organisation de coopération et de développement économiques
OMS	Organisation mondiale de santé
ONS	Office national des statistiques
P	
PA	Acide phtalique
PAX-8	Protéine à boîte appariée 8
Pc	Poids corporel
PC	Polycarbonate
PDS	Pendrine trans- porteuse d'iodure
Pe	Polyéthylène
PE	Perturbateurs endocriniens
PES	Polyesters
PM	Poids moléculaire
PP	Polypropylène
PPAR	Récepteur activé par les proliférateurs de peroxysomes
PR	Récepteur de progestéone
PROSAFE	Forum européen pour l'application de la sécurité des produits
PTFE	Polytétrafluoroéthylène
PU	Polyuréthane
PVC	Polychlorure de vinyle

Q	
QD	Quotient de danger
QuEChERS-dSPE	Quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe : dispersive solid phase extraction
R	
RA	Acide rétinoïque
RCR	Rapport de Caractérisation des Risques
RIVM	Institut national néerlandais pour la santé publique et l'environnement
RXR	Récepteur X rétinoïque
S	
SCCTEE	Comité scientifique de la toxicité, de l'écotoxicité et de l'environnement de l'UE
SE	Standard d'étalonnage
SFSTP	Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques
SIM	Single ion monitoring
SPE	Extraction en phase solide
SPME	Microextraction en phase solide
SV	Standard de validation
SXR	Récepteur des stéroïdes et des xénobiotiques
T	
T	Température
T3	Triiodothyronine
T4	Tétraïodothyronine
TA	Difficultés d'apprentissage
TDA	Trouble déficitaire de l'attention
TDAH	Déficit de l'attention avec hyperactivité
TDI	Tolerable daily intake
THF	Tétrahydrofurane
TJPA	Association chinoise des jouets et des produits de puériculture
TNO	Organisation néerlandaise pour la recherche scientifique appliquée
TPO	Peroxydase thyroïdienne
TR	Récepteur des hormones thyroïdiennes
Tr	Temps de rétention
TRH	Hormone de libération de la thyrotropine
TSA	Troubles du spectre autistique
TSH	Hormone thyroïdienne
TTF-1	Facteur de transcription thyroïdien 1
TTS	Total testing service
TUNAC	Le conseil national d'accréditation en Tunisie
U	
UAE	Extraction assistée par ultrasons
UPLC-MS/MS	Chromatographie liquide ultra-performante couplée à la spectrométrie de masse en tandem
USA	Etats-Unis
UV	Ultraviolet
V	
VTR	Valeurs toxicologiques de référence

LISTE DES FIGURES

Figure 1.	Formule générale du polymère PVC.	15
Figure 2.	Structure de l'acide o-phtalique (à gauche) et des esters de l'acide o-phtalique (les phtalates, à droite).	19
Figure 3.	Migration des phtalates dans l'environnement à partir des plastiques.	22
Figure 4.	Principales voies métaboliques de phase I des phtalates chez les rongeurs et chez l'homme.	29
Figure 5.	Métabolisme de DEHP.	30
Figure 6.	Mécanisme d'action et cibles des phtalates.	32
Figure 7.	Mécanisme de signalisation moléculaire plausible des phtalates chez l'homme.	34
Figure 8.	Mécanismes de signalisation moléculaire plausible vis-à-vis de la modulation épigénétique des phtalates.	36
Figure 9.	Mécanisme de signalisation moléculaire plausible provoqué par les phtalates et leurs métabolites pour expliquer les dysfonctionnements dans le système reproducteur masculin.	37
Figure 10.	Mécanismes de signalisations moléculaires plausibles provoquées par les phtalates et leurs métabolites expliquant les dysfonctionnements dans le système reproducteur féminin.	39
Figure 11.	Mécanisme de signalisation moléculaire provoqué par les phtalates expliquent le développement de cancer.	40
Figure 12.	Mécanisme de perturbation de signalisation moléculaire plausible provoqué par les phtalates comme obésogène.	41
Figure 13.	Principale action hormonale des phtalates.	44
Figure 14.	Métabolites du phtalate associés à l'obésité, au diabète de type 2, à l'athérosclérose et à l'hypertension.	45
Figure 15.	Arbre de sélection des scénarios d'exposition.	72
Figure 16.	Présentation de la zone d'étude.	96
Figure 17.	Spectromètre IR à transformée de Fourier (FTIR - 8400S-SHIMADZU).	102
Figure 18.	Spectromètre IR à réflexion totale atténuée (ATR - IRAffinity - 1S - SHIMADZU).	102
Figure 19.	GC-MS SHIMADZU-NEXIS GC 2030-GCMS QP 2020 NX-auto-injecteur SHIMADZU AOC-20i plus.	103
Figure 20.	Spectre IR spécifique du PVC.	104
Figure 21.	Test de flamme positif avec HCl.	105
Figure 22.	Matrice à presse hydraulique pour la préparation des pastilles.	106
Figure 23.	Presse hydraulique.	106
Figure 24.	Films préparés pour l'analyse IR.	107
Figure 25.	Spectre IR d'un jouet en PVC contenant environ 27,6% DEHP (A ₃₃).	117
Figure 26.	Spectre IR d'un jouet en PVC contenant 15,6% DEHP et 5,1% DINP (A ₄₄).	118
Figure 27.	Spectre IR -ATR positif de l'échantillon S ₃₃ .	140
Figure 28.	Spectre IR -ATR positif de l'échantillon A ₄₀ .	140
Figure 29.	Spectre IR du PVC étalon analysé par spectroscopie IR-FTIR.	140
Figure 30.	Chromatogramme du mélange des étalons DEHP (11µg/mL)/DINP (55µg/ml) en mode SCAN.	143

Figure 31	Chromatogramme du mélange DEHP (11µg/mL), DINP (55µg/mL) et BB (11µg/mL).	144
Figure 32.	Spectre de masse de BB en mode SCAN.	144
Figure 33.	Spectre de masse de DEHP en mode SCAN.	144
Figure 34.	Spectre de masse de DINP en mode SCAN.	145
Figure 35.	Chromatogramme de BB (1µg/mL) en mode SIM.	145
Figure 36.	Chromatogramme de DEHP (11µg/mL) mode SIM.	145
Figure 37.	Chromatogramme de DINP (55µg/mL) mode SIM.	146
Figure 38.	Chromatogramme du mélange des étalons DEHP (11µg/mL)/DINP (55µg/mL) en mode SIM.	146
Figure 39.	Courbe de réponse DEHP / EI avec et sans matrice (PVC).	149
Figure 40.	Courbe de réponse DINP / EI avec et sans matrice (PVC).	149
Figure 41.	Chromatogramme du blanc matrice (PVC) en mode SCAN.	150
Figure 42.	Chromatogramme du blanc matrice (PVC) en mode SIM.	150
Figure 43.	Comparaison des chromatogrammes en mode SCAN (Blanc matrice vs. Mélange DEHP-DINP-EI (11µg/mL-55µg/mL-1µg/mL respectivement)).	151
Figure 44.	Courbe d'étalonnage de DEHP.	151
Figure 45.	Courbe d'étalonnage de DINP.	152
Figure 46.	Première courbe d'étalonnage de DEHP du premier jour (J ₁).	154
Figure 47.	Deuxième courbe d'étalonnage de DEHP du premier jour (J ₁).	154
Figure 48.	Courbe moyenne d'étalonnage de DEHP du premier jour (J ₁).	154
Figure 49.	Première courbe d'étalonnage de DINP du premier jour (J ₁).	155
Figure 50.	Deuxième courbe d'étalonnage de DINP du premier jour (J ₁).	155
Figure 51.	Courbe moyenne d'étalonnage de DINP du premier jour (J ₁).	155
Figure 52.	Première courbe d'étalonnage de DEHP du deuxième jour (J ₂).	156
Figure 53.	Deuxième courbe d'étalonnage de DEHP du deuxième jour (J ₂).	156
Figure 54.	Courbe moyenne d'étalonnage de DEHP du deuxième jour (J ₂).	156
Figure 55.	Première courbe d'étalonnage de DINP du deuxième jour (J ₂).	157
Figure 56.	Deuxième courbe d'étalonnage de DINP du deuxième jour (J ₂).	157
Figure 57.	Courbe moyenne d'étalonnage de DINP du deuxième jour (J ₂).	157
Figure 58.	Première courbe d'étalonnage de DEHP du troisième jour (J ₃).	158
Figure 59.	Deuxième courbe d'étalonnage de DEHP du troisième jour (J ₃).	158
Figure 60.	Courbe moyenne d'étalonnage de DEHP du troisième jour (J ₃).	158
Figure 61.	Première courbe d'étalonnage de DINP du troisième jour (J ₃).	159
Figure 62.	Deuxième courbe d'étalonnage de DINP du troisième jour (J ₃).	159
Figure 63.	Courbe moyenne d'étalonnage de DINP du troisième jour (J ₃).	159
Figure 64.	Courbes d'étalonnage des trois jours de validation de DEHP.	160
Figure 65.	Courbes d'étalonnage des trois jours de validation de DINP.	161
Figure 66.	Courbe de linéarité de DEHP.	162
Figure 67.	Courbe de linéarité de DINP.	163
Figure 68.	Profil d'exactitude de la technique de dosage de DEHP.	167
Figure 69.	Profil d'exactitude de la technique de dosage de DINP.	168
Figure 70.	Représentation graphique de la distribution du taux de DEHP quantifié (n=129).	171
Figure 71.	Représentation graphique de la distribution du taux de DINP quantifié (n=44).	171
Figure 72.	Représentation graphique de la distribution de DEHP et DINP dans les jouets contenant les deux phtalates ensemble (n=44).	172

Figure 73.	Représentation graphique de la teneur en DEHP et DINP dans chaque jouet contenant les deux phtalates ensemble (n=44).	173
Figure 74.	Représentation graphique de la distribution du taux de DEHP dans les jouets non conformes (n=98).	175
Figure 75.	Comparaison du taux de DEHP dans les jouets analysés à la norme (0,1%).	176
Figure 76.	Représentation graphique de la distribution du taux de DINP dans les jouets non conformes (n=44).	176
Figure 77.	Comparaison du taux de DINP dans les jouets analysés à la norme (0,1%).	177
Figure 78.	Représentation graphique de la distribution du taux de DEHP dans les jouets non conformes en fonction du type de jouets (n=112).	180
Figure 79.	Représentation graphique de la distribution du taux de DINP dans les jouets non conformes en fonction du type de jouets (n=112).	181
Figure 80.	Représentation graphique de la distribution du taux de DEHP et DINP dans les jouets non conformes en raison de DEHP et DINP (n=30).	182
Figure 81.	Représentation graphique de la distribution du taux de migration <i>in vitro</i> de DEHP à partir des jouets non conformes (n=44).	185
Figure 82.	Représentation graphique de la distribution du taux de migration <i>in vitro</i> de DINP à partir des jouets non conformes (n=6).	188
Figure 83.	Comparaison du taux de de migration de DEHP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/\text{min}/10\text{cm}^2$) à la valeur guide de migration ($1,67\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$).	190
Figure 84.	Comparaison du taux de de migration de DINP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/\text{min}/10\text{cm}^2$) à la valeur guide de migration ($6,67\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$).	190
Figure 85.	Corrélation entre le taux de DEHP (%p/p) et le taux de migration <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$) (n=44).	192
Figure 86.	Corrélation entre le taux de DINP (%p/p) et le taux de migration <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$) (n=6)	194
Figure 87.	Représentation graphique de la distribution du taux de migration <i>in vivo</i> de DEHP à partir des jouets non conformes (n=24)	196
Figure 88.	Représentation graphique de la distribution du taux de migration <i>in vivo</i> de DINP à partir des jouets non conformes (n=4)	198
Figure 89.	Comparaison du taux de de migration de DEHP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/\text{min}/10\text{cm}^2$) à la valeur guide de migration ($1,67\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$) (n=24).	199
Figure 90.	Comparaison du taux de de migration de DINP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/\text{min}/10\text{cm}^2$) à la valeur guide de migration ($1,67\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$) (n=4).	199
Figure 91.	Corrélation entre le taux de DEHP (% p/p) et le taux de migration <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$) (n=24).	201
Figure 92.	Corrélation entre le taux de DINP (% p/p) et le taux de migration <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$) (n=4).	202
Figure 93.	Corrélation entre le taux de migration de DEHP <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$) (n=22).	204
Figure 94.	Corrélation entre le taux de migration de DINP <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$) (n=4).	206
Figure 95.	Représentation graphique de la distribution de la DJE de DEHP pour chaque tranche d'âge (n=44).	208

Figure 96.	Représentation graphique de la distribution de la DJE de DINP pour chaque tranche d'âge (n=6).	209
Figure 97.	Comparaison de la DJE moyenne au DEHP entre les trois groupes d'âge de moins de 36 mois.	210
Figure 98.	Comparaison de la DJE moyenne au DINP entre les trois groupes d'âge de moins de 36 mois.	210
Figure 99.	Jouets achetés de la ville de Bejaia.	lii
Figure 100.	Jouets achetés de la wilaya d'Alger.	lii
Figure 101.	Jouets achetés de la wilaya de Sétif.	lii
Figure 102.	Jouets achetés de la wilaya d'Annaba.	liii
Figure 103.	Jouets achetés de la wilaya de Constantine.	liii
Figure 104.	Jouets achetés de la wilaya d'Oran.	liii

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.	Classification des jouets (NPD).	11
Tableau 2.	Esters de phtalates.	21
Tableau 3.	Propriétés physico-chimiques des principaux phtalates.	22
Tableau 4.	Contribution de chaque couple milieu/voie d'exposition à l'exposition totale des très jeunes enfants (en dessous de 3 ans).	27
Tableau 5.	Principales sources et voies d'exposition pour certains phtalates.	27
Tableau 6.	Différents métabolites de DEHP et DINP.	31
Tableau 7a.	Principales études sur les effets toxiques des phtalates sur la santé de l'enfant.	56
Tableau 7b.	Principales études sur les effets toxiques des phtalates sur la santé de l'enfant.	57
Tableau 7c.	Principales études sur les effets toxiques des phtalates sur la santé de l'enfant.	58
Tableau 7d.	Principales études sur les effets toxiques des phtalates sur la santé de l'enfant.	59
Tableau 7e.	Principales études sur les effets toxiques des phtalates sur la santé de l'enfant.	60
Tableau 8.	Limites réglementaires internationales pour la composition en phtalates des jouets pour enfants.	62
Tableau 9.	Caractéristiques physiologiques et comportementales des enfants (de la naissance jusqu'à 36 mois).	69
Tableau 10.	Résumé des principaux algorithmes de mise en bouche dans les études de cas des phtalates dans les jouets en plastiques selon l'OCDE.	77
Tableau 11.	Poids corporels de l'enfant de 0 à 36 mois.	79
Tableau 12.	Durée moyenne de mise en bouche (min/jour).	80
Tableau 13.	Exposition journalière interne pour huit phtalates en $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ chez les enfants moins de 36 mois.	83
Tableau 14.	DNEL de DEHP /DINP pour une administration à long terme par voie pulmonaire, cutanée et orale dans la population générale.	84
Tableau 15.	Valeurs toxicologiques de référence orales à seuil pour des expositions chroniques au DEHP et DINP.	85
Tableau 16.	Conditions de GC-MS initiales.	108
Tableau 17.	Paramètres de la méthode SIM.	109
Tableau 18.	Dopage de la matrice PVC pour la vérification de l'effet matrice.	111
Tableau 19.	Préparation des solutions sans la matrice PVC pour la vérification de l'effet matrice.	111
Tableau 20.	Choix du nombre de standards d'étalonnage et de validation en fonction du protocole choisi.	113
Tableau 21.	Récapitulatif des conditions finales de la GC-MS.	119
Tableau 22.	Paramètres SIM.	119
Tableau 23.	Tolérance maximale autorisée pour les intensités relatives des ions.	120
Tableau 24.	Préparation de la série de calibration de DEHP et DINP.	121
Tableau 25.	Contrôle qualité externe selon TTS.	123
Tableau 26.	Composition et quantités à pondérer pour 1L de solution de simulant de salive.	126
Tableau 27.	Valeurs guides de migration des phtalates dans les jouets (SCTEE 1998).	129
Tableau 28.	Durée moyenne de mise en bouche (min/jour).	133

Tableau 29.	Poids corporels de l'enfant de 0 à 36 mois.	133
Tableau 30.	Répartition des jouets sélectionnés selon la wilaya de provenance.	138
Tableau 31.	Répartition des jouets sélectionnés selon le pays d'origine (n=271).	138
Tableau 32.	Répartition des jouets sélectionnés selon le type de jouets (n=271).	138
Tableau 33.	Répartition des jouets sélectionnés selon le prix d'achat (n=271).	139
Tableau 34.	Répartition des jouets sélectionnés selon les résultats du test de flamme (n=271).	139
Tableau 35.	Répartition des jouets sélectionnés selon les résultats de l'IR (n=152).	139
Tableau 36.	Répartition des jouets en PVC selon la wilaya de provenance (n=149).	141
Tableau 37.	Répartition des jouets sélectionnés selon le pays d'origine et la nature du polymère (n=271).	141
Tableau 38.	Répartition des jouets en PVC souple selon le type de jouets (n=149).	142
Tableau 39.	Répartition des jouets en PVC souple selon le prix (n=149).	142
Tableau 40.	Comparaison des résultats obtenus par test de flamme et spectroscopie IR.	142
Tableau 41.	Temps de rétention et ions d'identification des phtalates analysés (DEHP et DINP) et BB.	143
Tableau 42.	Conditions finales de la GC-MS.	147
Tableau 43.	Paramètres SIM après optimisation.	147
Tableau 44.	Détermination du rendement de l'extraction.	147
Tableau 45.	Vérification de l'effet matrice.	147
Tableau 46.	Tests statistiques pour la vérification de l'effet matrice.	150
Tableau 47.	Réponses obtenus avec six concentrations de DEHP ($\mu\text{g/mL}$).	151
Tableau 48.	Réponses obtenus avec six concentrations de DINP ($\mu\text{g/mL}$).	152
Tableau 49.	Calcul de LD et LQ à partir de l'écart-type des blancs.	153
Tableau 50.	Courbes d'étalonnage de DEHP du premier jour (J_1).	154
Tableau 51.	Courbe d'étalonnage de DINP du premier jour (J_1).	155
Tableau 52.	Courbes d'étalonnage de DEHP du deuxième jour (J_2).	156
Tableau 53.	Courbes d'étalonnage de DINP du deuxième jour (J_2).	157
Tableau 54.	Courbes d'étalonnage de DEHP du troisième jour (J_3).	158
Tableau 55.	Courbes d'étalonnage de DINP du troisième jour (J_3).	159
Tableau 56.	Gammes d'étalonnage de DEHP des trois jours (Pentes, coefficients de corrélation et coefficient de détermination).	160
Tableau 57.	Gammes d'étalonnage de DINP des trois jours (Pentes, coefficients de corrélation et coefficient de détermination).	161
Tableau 58.	Concentrations calculées des standards de validation de DEHP des trois jours de validation.	162
Tableau 59.	Concentrations calculées des standards de validation de DINP des trois jours de validation.	163
Tableau 60.	Calcul des recouvrements de DEHP.	164
Tableau 61.	Calcul des recouvrements de DINP.	164
Tableau 62.	Biais absolu et biais relatif de DEHP.	165
Tableau 63.	Biais absolu et biais relatif de DINP.	165
Tableau 64.	Estimation de la fidélité des trois séries de DEHP (écarts types et CV).	166
Tableau 65.	Estimation de la fidélité des trois séries de DINP (écarts types et CV).	166
Tableau 66.	Test de l'existence d'une pente significative (<i>Fisher</i>).	167
Tableau 67.	Profil d'exactitude de la technique de dosage de DEHP.	167
Tableau 68.	Profil d'exactitude de la technique de dosage de DINP.	168
Tableau 69.	Performances analytiques de la technique de dosage de DEHP/DINP dans les jouets en PVC par GC-MS.	169

Tableau 70.	Taux moyen des phtalates (DEHP, DINP) dans les jouets en PVC (n=149).	170
Tableau 71.	Taux moyen des phtalates (DEHP et DINP) dans les jouets en PVC contenant les deux phtalates ensemble à des teneurs quantifiables (n=44).	172
Tableau 72.	Taux moyen des phtalates (DEHP et/ou DINP) dans les jouets non conformes (n=112).	174
Tableau 73.	Type de jouets non conformes en fonction du taux de DEHP (n=98).	175
Tableau 74.	Type de jouets non conformes en fonction du taux de DINP (n=44).	176
Tableau 75.	Type de jouets non conformes par rapport à la teneur en phtalates (n=112).	177
Tableau 76.	Pourcentage de non-conformité dans chaque type de jouets en PVC.	178
Tableau 77a.	Distribution du taux des phtalates (DEHP et DINP) en fonction du type de jouets non conformes.	179
Tableau 77b.	Distribution du taux des phtalates (DEHP et DINP) en fonction du type de jouets non conformes.	180
Tableau 78.	Jouets non conformes en raison des taux de DEHP et DINP (n=30).	182
Tableau 79.	Jouets non conformes par rapport au DEHP et DINP simultanément (n=30).	182
Tableau 80.	Tableau croisé entre la non-conformité et le prix d'achat des jouets (n=149).	183
Tableau 81.	Tableau croisé entre la non-conformité et le type de jouet.	183
Tableau 82.	Tableau croisé entre la présence de DEHP et le DINP.	184
Tableau 83.	Type de jouets soumis à un test de migration salivaire <i>in vitro</i> (n=97).	184
Tableau 84.	Taux de migration salivaire de DEHP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$).	185
Tableau 85.	Type de jouets dans lesquels le DEHP a migré vers la salive artificielle (n=44).	186
Tableau 86a.	Distribution du taux de migration de DEHP <i>in vitro</i> en fonction du type de jouets et de leur teneur en DEHP (n=44).	186
Tableau 86b.	Distribution du taux de migration de DEHP <i>in vitro</i> en fonction du type de jouets et de leur teneur en DEHP (n=44).	187
Tableau 87.	Taux de migration salivaire de DINP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$) (n=6).	188
Tableau 88.	Type de jouets dans lesquels le DINP a migré vers la salive artificielle (n=6).	188
Tableau 89.	Distribution du taux de migration de DINP <i>in vitro</i> en fonction du type de jouets et de leur teneur en DINP (n=6).	189
Tableau 90.	Test de normalité (DEHP (% p/p)) et taux de migration de DEHP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$).	191
Tableau 91.	Analyse de corrélation paramétrique entre la teneur des jouets en DEHP (% p/p) et taux de migration de DEHP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$).	191
Tableau 92.	Test de normalité (DINP (% p/p) et taux de migration de DINP <i>in vitro</i>).	193
Tableau 93.	Analyse de corrélation non paramétrique entre la teneur des jouets en DINP (% p/p) et taux de migration de DINP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$).	193
Tableau 94.	Type de jouets soumis à un test de migration salivaire <i>in vivo</i> (n=82).	195
Tableau 95.	Type de jouets dans lesquels le DEHP a migré vers la salive naturelle (n=24).	195
Tableau 96.	Taux de migration de DEHP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$) (n=24).	196
Tableau 97.	Distribution du taux de migration de DEHP <i>in vivo</i> en fonction du type de jouets et de leur teneur en DEHP (n=24).	197
Tableau 98.	Taux de migration de DINP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$) (n=4).	198

Tableau 99.	Récapitulatif des données de migration de DEHP <i>in vivo</i> et la teneur des jouets testés (n=24).	200
Tableau 100.	Analyse de corrélation non paramétrique entre la teneur des jouets en DEHP (% p/p) et taux de migration de DEHP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$).	200
Tableau 101.	Récapitulatif des données de migration de DINP <i>in vivo</i> et la teneur des jouets testés (n=4).	202
Tableau 102.	Analyse de corrélation non paramétrique entre la teneur des jouets en DINP (% p/p) et taux de migration de DINP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$).	202
Tableau 103.	Taux de migration de DEHP <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$) (n=22).	203
Tableau 104.	Analyse de corrélation non paramétrique entre la migration de DEHP <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$).	204
Tableau 105.	Taux de migration de DINP <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$) (n=4).	205
Tableau 106.	Analyse de corrélation non paramétrique entre la migration de DINP <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$).	205
Tableau 107.	Comparaison de la moyenne de migration de DEHP <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> .	206
Tableau 108.	Comparaison de la moyenne de migration de DINP <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> .	207
Tableau 109.	DJE des enfants de moins de 36 mois au DEHP ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$).	208
Tableau 110.	DJE des enfants de moins de 36 mois au DINP ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$).	208
Tableau 111.	Tests de normalité - Test d'homogénéité des variances de DJE de DEHP.	209
Tableau 112.	Comparaison des DJE ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$) avec la norme DJA ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$).	211
Tableau 113.	Calcul de l'indice du risque d'exposition au DEHP selon le scénario de mise en bouche (n=44).	213
Tableau 114.	Calcul de l'indice du risque d'exposition au DINP selon le scénario de mise en bouche (n=6).	213
Tableau 115.	Comparaison entre le test de flamme et la spectroscopie IR.	219
Tableau 116.	Comparaison des teneurs de DEHP /DINP (%p/p) de notre étude avec la littérature.	225
Tableau 117.	Comparaison de la corrélation entre le taux de phtalates et la migration <i>in vitro</i> de notre étude avec la littérature	236
Tableau 118.	Comparaison des taux de migration <i>in vivo</i> de notre étude avec la littérature.	245
Tableau 119.	Comparaison des taux de migration salivaire des phtalates dans un simulant de salive et dans la salive des adultes volontaires.	247



**INTRODUCTION
GENERALE**

INTRODUCTION GENERALE

L'exposition à de multiples substances chimiques présentes dans des produits de consommation, pendant les périodes critiques du développement de l'enfant (*in utero*, périnatal, *etc.*), est évoquée parmi les hypothèses permettant d'expliquer l'augmentation de l'incidence de certaines pathologies (obésité, troubles neuro-développementaux, effets sur l'appareil reproducteur, *etc.*) [1, 2].

Les enfants jeunes, et en particulier ceux âgés de moins de 36 mois, constituent une population spécifique particulièrement vulnérable aux risques toxiques et relativement plus exposé à de nombreuses substances chimiques. En effet, ils ont des habitudes spécifiques qui peuvent donner lieu à des scénarios d'exposition non considérés pour l'adulte [1, 3-5].

Des comportements comme la mise en bouche des objets, peut entraîner une exposition orale aux substances qui migrent dans la salive, ce qui conduit à un potentiel d'exposition plus élevé [4-7]. Selon la littérature scientifique, l'observation de ce comportement chez les enfants de moins de 36 mois confirme que les enfants, au cours de cette période, portent à la bouche une grande diversité d'objets, et précisent que le plastique est le matériau le plus couramment mis en bouche [5-9].

Les jouets sont fabriqués majoritairement en plastique en raison de leur faible coût et de leur durabilité [10]. Les jouets en plastique représentent environ 72% des chiffres d'affaires des magasins vendeurs des jouets [11].

La production mondiale de plastique a augmenté au fil des ans pour atteindre 335 millions de tonnes en 2016 [12].

Le polychlorure de vinyle (PVC) représente l'un des premiers polymères, et l'une des matières les plus utilisées dans la fabrication des jouets en plastiques [13].

Diverses substances sont ajoutées intentionnellement dans les formulations du PVC pour conférer certaines propriétés aux jouets entre autres les phtalates [13].

Les phtalates appelés également esters de phtalates sont des plastifiants. Ils sont mélangés aux polymères à des concentrations variables (jusqu'à 50%), afin d'obtenir un degré souhaitable de flexibilité et de souplesse de jouet [14-17].

Le large éventail d'applications combiné à des prix relativement bas ont fait des phtalates le choix de plastifiant préféré et le plus utilisé dans l'industrie du PVC [3, 14, 18-21].

Les phtalates ne sont pas liés de manière covalente à la matrice du polymère PVC, ils peuvent migrer facilement vers le milieu qui entre en contact avec eux [2, 5, 20, 22-24].

Ceci explique l'exposition potentielle des enfants en raison de leur comportement de mise en bouche suite à la migration des phtalates dans la salive [15, 25].

INTRODUCTION GENERALE

Plusieurs études ont signalé la présence de niveaux élevés de phtalates dans les jouets et leur migration potentiel [3, 10, 13, 16, 20, 24, 26-34].

Deux phtalates, le di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) et le di-*iso*-nonyl phthalate (DINP) ont fait l'objet d'une attention particulière, en raison des préoccupations spécifiques liées aux expositions pédiatriques ; *via* les jouets en plastique qui représentent l'une des principales sources d'exposition des enfants aux phtalates, et de leur potentiel toxique en tant que perturbateurs endocriniens [17, 23, 35]. Les principaux phtalates auxquels l'enfant de moins de 3 ans est exposé *via* les jouets sont le DINP et le DEHP [36].

Le DEHP suscite le plus d'inquiétudes, avec plus de deux millions de tonnes produites annuellement [20]. Il était le plastifiant le plus utilisé dans les jouets souple en PVC, en raison de son faible coût [2, 20, 29, 33]. Cependant, en raison de la preuve de sa toxicité, il a été remplacé progressivement par le DINP, moins toxiques avec des performances proches à celle du DEHP. Le DINP est actuellement le plastifiant le plus utilisé dans les jouets [26, 29, 30, 35]. Le DEHP est de moins en moins utilisé en Europe et aux États-Unis, mais son utilisation est toujours importante en Asie ; d'où la forte probabilité que des jouets en plastique souple importés, plus particulièrement de la Chine puissent contenir le DEHP [11, 19].

Sur la base d'études épidémiologiques, les phtalates sont considérés comme l'une des substances chimiques perturbatrices du système endocrinien les plus couramment répandu dans le monde [8, 18, 21]. Les effets sur la santé liés à l'exposition aux phtalates regroupent l'altération du système reproducteur, les effets neurologiques, l'incidence du cancer, l'obésité, le diabète, l'asthme, les allergies et les effets hépatotoxiques [17, 21, 32].

Toutefois, la force de l'association est variable et la plupart des travaux sont axés sur l'altération de la reproduction masculine [17, 37]. Le DEHP et le DINP ont un effet anti-androgène [20]. Le DEHP a été classé reprotoxique et cancérigènes potentiels [2, 20, 22, 35, 38-40].

L'apparition de maladies liées au mode de vie comme la résistance à l'insuline, le surpoids et l'obésité, et les maladies des voies respiratoires comme l'asthme chez les enfants doit être abordée avec la plus grande importance, car ils succombent sans le savoir à cette tragédie par les actes de leurs aînés. Peut-être que l'exposition aux phtalates n'est pas le seul agent causal de ces épidémies mondiales, mais les effets cumulatifs d'autres allergènes et/ou polluants environnementaux dangereux devraient y contribuer de manière complémentaire ou supplémentaire, et ce fait devrait également être abordé en même temps que l'impact des phtalates pour atténuer ces problèmes de santé chez les enfants [25].

Pour garantir la sécurité de l'utilisation de phtalates dans les jouets, il faut démontrer que le niveau d'exposition ne dépasse pas des valeurs limites pertinentes fondées sur la santé.

INTRODUCTION GENERALE

L'évaluation du niveau d'exposition aux phtalates chez des enfants de moins de 36 mois *via* les jouets en plastique repose sur le calcul de la dose journalière d'exposition (DJE), correspondant à la quantité de phtalate à laquelle est exposée quotidiennement l'enfant (exprimée en mg/kg du poids corporel par jour). Le calcul utilise des formules mathématiques et implique la prise en compte de scénarios d'exposition et de variables d'exposition spécifiques à l'enfant de moins de 36 mois [41].

Il existe plusieurs rapports méthodologiques relatifs à l'évaluation des risques chimiques liés à l'utilisation de jouets. Le rapport de l'institut national néerlandais pour la santé publique et l'environnement (RIVM, 2008) constitue le rapport de référence [41].

Selon le RIVM, l'évaluation des risques sanitaires des phtalates *via* des jouets chez des enfants de moins de 36 mois doit être conduite en considérant exclusivement le scénario de migration des phtalates dans la salive lors de la mise en bouche du jouet. Cette voie d'exposition a été jugée la plus pertinente [41].

Pour évaluer la migration de phtalates dans la salive ; il est admis qu'il est impossible de mener des études sur des enfants pour des raisons pratiques et éthiques. Il est donc convenu de recourir à des adultes volontaires comme substituts [42]. D'après le RIVM, il est acceptable d'utiliser les taux de migration salivaire *in vivo* mesurés sur des volontaires comme meilleure estimation des taux de migration salivaire chez les enfants [41].

Les taux de migration salivaire *in vivo* mesurés dans des études antérieures varient de 0,5 à 10 μ g/10cm²/min [33, 42-45].

Généralement, les études *in vivo* sont réalisées en parallèle avec des études *in vitro*, permettant ainsi une comparaison des taux de migration [33, 42, 44-46].

Selon le comité scientifique de la toxicité, de l'écotoxicité et de l'environnement de l'union européenne UE (SCCTEE 1998), la quantité maximale admissible qui migre à partir d'un jouet est de 0,3mg pour le DEHP et de 1,2mg pour le DINP par 10cm² de jouet mis en bouche sur une période de 3 heures [47].

Quels que soient les ressources naturelles et le niveau de développement économique d'un pays, les enfants représentent l'avenir et il convient donc de veiller à leur développement optimal et de les protéger [48]. En effet, plusieurs pays ont établi des réglementations rigoureuses, limitant la concentration de phtalates dans les jouets. Les réglementations de l'UE, des États-Unis et du Canada prévoient un niveau maximal autorisé de 0,1% en poids de jouet [49-53].

La limite réglementaire de 0,1% des différents phtalates dans les jouets, équivaut à une interdiction des phtalates dans les plastiques, car un niveau minimal de 10% de phtalates, en poids, est requis pour obtenir l'effet plastifiant sur le PVC [5, 32].

INTRODUCTION GENERALE

En Algérie, il existe quatre textes réglementaires en rapport avec les jouets jusqu'à ce jour ; aucun de ces textes n'aborde une limite réglementaire des phtalates dans les jouets [54].

Les phtalates sont réglementés uniquement dans les articles de puériculture selon l'arrêté interministériel du 6 Chaoual 1437 correspondant au 11 juillet 2016 portant adoption du règlement technique fixant les exigences de sécurité des articles de puériculture publié dans le journal officiel de la république algérienne n° 68 Correspondant au 27 novembre 2016 [55].

En outre, les bilans de l'activité analytique des laboratoires de la répression des fraudes du centre algérien du contrôle de la qualité et de l'emballage (CACQE) des années 2012, 2013, 2014, 2015, 2017 et 2019, montrent clairement qu'aucun contrôle n'est effectué sur les jouets quel que soit leurs nature chimique [56].

Selon une étude réalisée au niveau de la faculté de Médecine de l'université Ferhat Abbas 1-Sétif, les jouets commercialisés dans l'Est Algérien ont montré la présence d'une forte concentration en métaux lourds et en métalloïdes [11]. Cependant, aucune étude n'a été menée pour évaluer la concentration des phtalates type DEHP et DINP dans les jouets en plastique souple.

Il a donc été jugé impératif d'entreprendre une étude qui permettra de mesurer le taux des deux phtalates qui suscitent le plus d'inquiétude dans les jouets en PVC souple commercialisés sur le marché Algérien ainsi que d'évaluer l'exposition des enfants de moins de 36 mois suite à l'utilisation de ces jouets.

Sur la lumière de ces données les objectifs fixés pour cette étude sont :

1. Objectif principal :

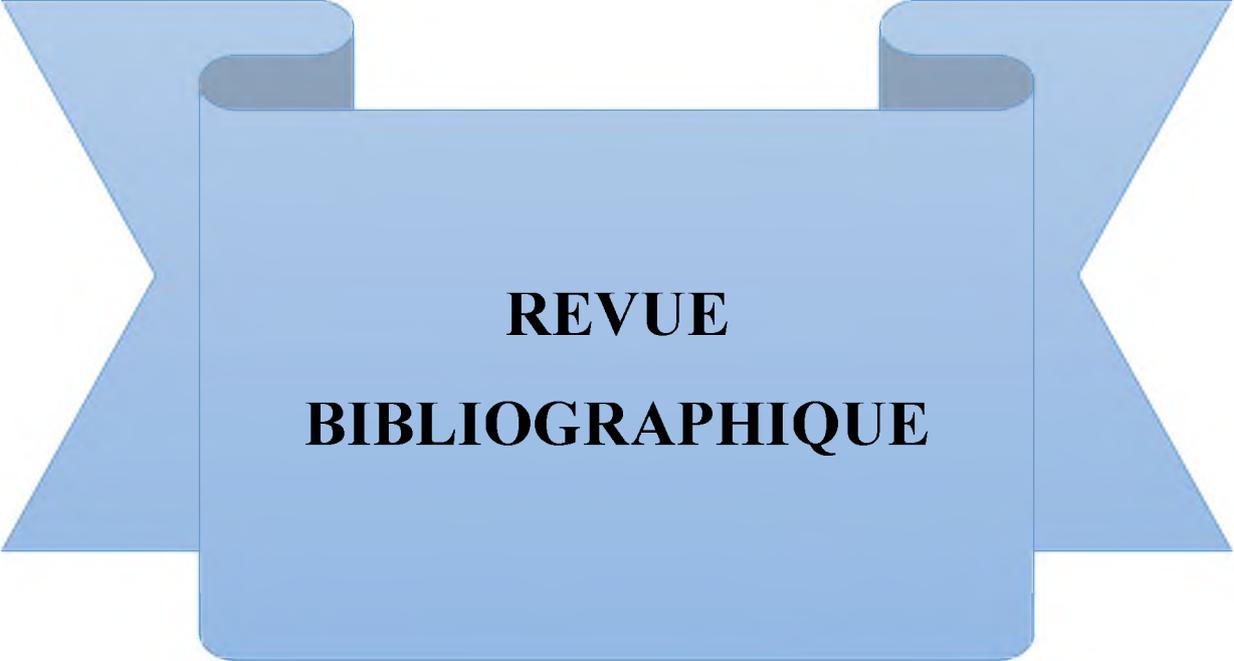
Evaluation des niveaux d'exposition des enfants âgés de moins de 36 mois au DEHP et au DINP *via* les jouets neufs en PVC, commercialisés dans la région du Nord Algérien (Sétif, Constantine, Annaba, Bejaia, Alger et Oran).

2. Objectifs secondaires :

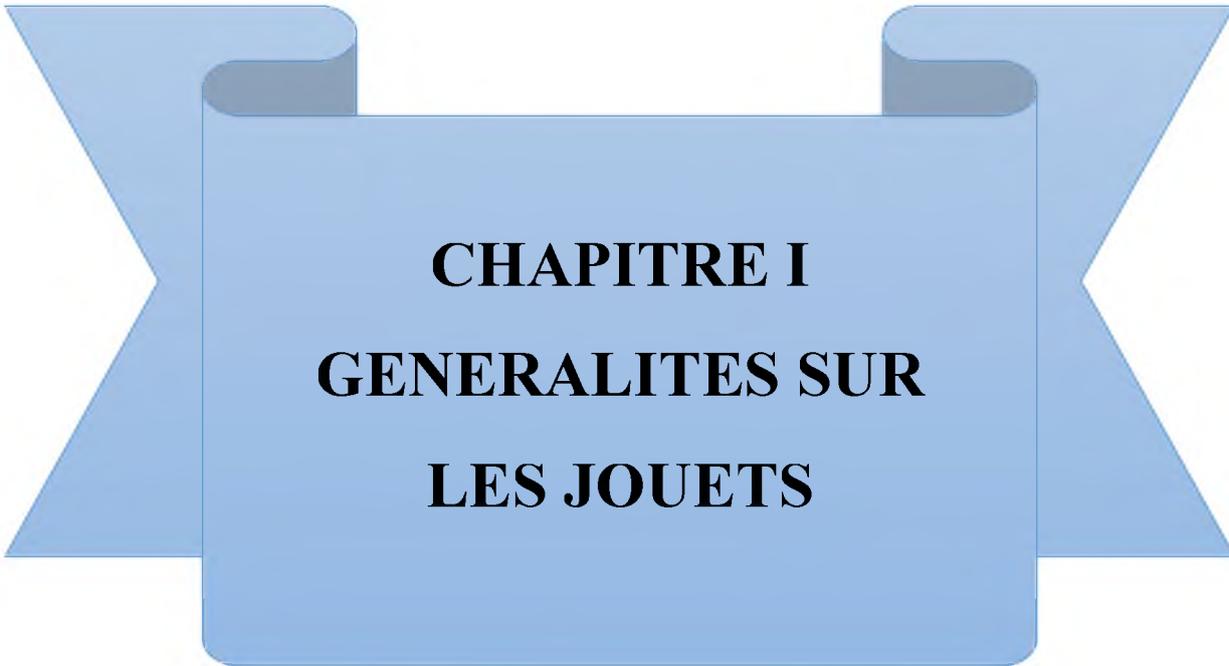
1. Mise au point et validation analytique d'une méthode de dosage de DEHP et DINP dans les jouets par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) ;
2. Détermination de la fréquence des jouets contenant le DEHP et/ou le DINP à une concentration dépassant la limite réglementaire adoptée dans l'UE, le Canada et les Etats-Unis (0,1%) ;
3. Etude de la corrélation entre la concentration de DEHP et de DINP dans le jouet et la migration *in vitro* dans un simulant de salive ;

INTRODUCTION GENERALE

4. Etude de la corrélation entre la concentration de DEHP et de DINP dans le jouet et la migration salivaire *in vivo* chez les sujets adultes volontaires ;
5. Comparaison des taux de migration salivaire de DEHP et de DINP *in vivo* et *in vitro*.



**REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE**



CHAPITRE I
GENERALITES SUR
LES JOUETS

CHAPITRE I. GENERALITES SUR LES JOUETS

I.1. DEFINITION D'UN JOUET

I.1.1. Définition selon la réglementation algérienne

Selon le décret exécutif n° 97-494 du 21 Chaabane 1418 correspondant au 21 décembre 1997 relatif à la prévention des risques résultant de l'usage des jouets : « Un jouet est tout produit conçu ou manifestement destiné à être utilisé à des fins de jeux par des enfants d'un âge inférieur à 14 ans, à l'exclusion de ceux prévus en annexe I du présent décret » (Annexe 1) [57].

I.1.2. Définition selon la réglementation européenne

Selon l'article 2 de la directive 2009/48/CE du parlement européen et du conseil du 18 juin 2009 relative à la sécurité des jouets ; cet article donne une définition des jouets qui permet d'établir si un produit relève ou non du champ d'application de la directive, à savoir : « Tout produit conçu ou destiné, exclusivement ou non, à être utilisé à des fins de jeux par des enfants de moins de 14 ans » (Annexe 2) [58].

I.2. CLASSIFICATION DES JOUETS

La classification des jouets fait l'objet de discussions au sein du groupe expert de la directive jouets 2009/48/CE qui établit des documents d'orientation publiés sur le site de la commission européenne. Il n'existe, à ce jour, aucune classification harmonisée des jouets permettant de catégoriser un jouet en particulier [3, 11].

Il est possible de catégoriser les jouets sur la base de différents critères : danger possible pour la sécurité, type de matériau, type d'utilisation, groupes d'âge prévus et type d'exposition.

Aux fins de la sécurité générale des jouets, y compris la sécurité mécanique et thermique, il peut être plus pertinent de catégoriser les jouets en fonction des risques possibles pour la sécurité [41].

I.2.1. Classification selon le risque potentiel

Le guide destiné à l'industrie sur les exigences de Santé Canada en matière de sécurité des jouets pour enfants et des produits connexes utilise une classification qui lie le type de jouet au risque d'utilisation en termes de sécurité générale des jouets.

Ce type de classification est utile pour déterminer quel groupe de jouet présentant le risque le plus élevé en termes de sécurité générale (danger mécanique, danger d'inflammabilité, dangers de toxicité, dangers microbiologiques, dangers créés par l'électricité, dangers créés par la chaleur, matériau de rembourrage) [59].

CHAPITRE I. GENERALITES SUR LES JOUETS

I.2.2. Classification selon le type de jouet

Les jouets traditionnels peuvent être classés de différentes façons :

- a. Jouets symboliques comme les poupées, les figurines, les voitures, la cuisine, *etc.* ;
- b. Jouets de la motricité fine tels que les blocs, les formes, les puzzles, les trains, *etc.* ;
- c. Jouets d'art utilisant l'argile et la coloration, *etc.* ;
- d. Jouets de langage et/ou de concepts comme les jeux de cartes, jeux de société. ;
- e. Jouets de la motricité globale et/ou physique tels que les grosses voitures jouets, les tricycles, les jouets à pousser et à tirer, *etc.* [60].

Ils peuvent aussi être classés comme suit :

- a. Activité (balles, billes, yoyos, outils, lettres) ;
- b. Voitures et trains (et autres jouets à roues) ;
- c. Construction (blocs et briques cloutées) ;
- d. Alimentation (capsules de bouteilles, couverts, vaisselle, modèles d'aliments) ;
- e. Figurines (animaux, dinosaures, poupées, personnages) ;
- f. Jeux et puzzles (jeux de société, trieurs de formes, jouets de calcul) ;
- g. Bijoux (bracelets, perles, anneaux) ;
- h. Générateurs de sons (crécelles, sifflets, cloches, instruments de musique) ;
- i. Eau (principalement des jouets de bain) [61].

En Europe, la seule classification existante, tous pays confondus, est celle réalisée par le panéliste NPD Group possédant le panel Euro Toys® [3].

NPD « National Purchase Diary », qui signifie « Journal national des achats » en français est l'un des principaux systèmes de suivi des ventes au détail aux États-Unis. Le NPD Group est une société d'études de marché qui utilise le système de registre national des achats pour collecter des données sur les ventes de produits de consommation dans différents secteurs, tels que l'électronique, les jouets, les produits de beauté, l'habillement, l'alimentation, *etc.* Les informations collectées par le NPD Group sont utilisées pour analyser les tendances du marché, les habitudes d'achat des consommateurs et aider les entreprises à prendre des décisions stratégiques.

Euro Toys® est le seul panel à fournir des données à l'échelle européenne sur les consommateurs et les ventes en magasin des jeux et jouets [3].

CHAPITRE I. GENERALITES SUR LES JOUETS

Les différentes catégories sont présentées dans le tableau 1 :

Tableau 1. Classification des jouets (NPD) [3].

Catégories	Sous classes
Figurines d'action et accessoires	Figurines d'action/ accessoires/ jeux de rôle
Autres jouets	Maquettes, modélismes et accessoires/jeux éducatifs musicaux/jeux d'imitation/autres jouets
Loisirs créatifs/activités artistiques	Pâte à modeler/ aérographe/ arayons, pinceaux, <i>etc.</i> / jeux manuels/ fournitures, sculpture
Véhicules	Véhicules à énergie/ véhicule sans énergie
Jeux de construction	/
Poupées	Poupons et accessoires/ poupées mannequins/mini poupées et accessoires à thèmes / poupées, maisons et accessoires
Jeux de société/puzzles	Jeux de société/ puzzles
Jeux 1^{er} âges et préscolaire	Jeux 1er âge/ jeux préscolaires
Electroniques junior	Robots et compagnons interactifs/ jeux électroniques avancés / divertissement électronique
Peluches	/
Jouets de plein air et jeux sportifs	Porteurs / jeux de sport / jeux de plein air saisonnier

I.2.3. Classification selon la matière de fabrication

Les jouets sont fabriqués dans différents matériaux tels que le bois, le plastique, le métal, le tissu, le carton, ou bien même un mélange de différents matériaux [3, 62].

Le PVC représente l'une des matières plastiques les plus utilisées dans le domaine des jouets [3, 41].

I.2.4. Classification selon l'âge d'utilisation du jouet

Selon la norme ISO/TR 8124-8 : 2016, des lignes directrices ont été établies pour la détermination de l'âge minimum auquel les enfants commencent à jouer avec des jouets dans des sous-catégories spécifiques de jouets [63].

Ces lignes directrices s'adressent principalement aux fabricants et aux organismes qui évaluent la conformité des jouets aux normes de sécurité, mais aussi aux institutions pédiatriques, aux enseignants qui utilisent des jouets dans leurs activités de routine, et aux consommateurs.

Elles mettent en œuvre sept catégories de jouets suivantes :

- a. Activités sensorimotrices - premier âge ;
- b. Jouets pour les activités physiques ;
- c. Jouets pour les activités intellectuelles ;
- d. Jouets qui reproduisent le monde technique ;
- e. Des jouets pour le développement des sentiments et de l'empathie ;
- f. Des jouets pour les activités créatives ;

CHAPITRE I. GENERALITES SUR LES JOUETS

g. Les jouets destinés aux relations sociales.

La classification est basée principalement sur les aspects liés au développement moteur et cognitif, et au comportement des enfants [64].

On cite également le rapport CR 14379 de la commission européenne de normalisation (CEN) dans son document d'orientation n°11, portant sur la classification des jouets, établit des lignes directrices pour faire correspondre les caractéristiques des jouets à l'âge des enfants. Le document détaillé propose une classification des jouets destinés aux enfants de moins ou de plus de 36 mois [65].

La directive reconnaît toutefois que les enfants de moins de 36 mois sont particulièrement exposés à des risques en raison de leur tendance à tout porter à leur bouche et de leur immaturité ou des limites de leur maturité physique et mentale. En conséquence, la directive fixe des dispositions strictes concernant spécifiquement les jouets destinés à des enfants de moins de 36 mois [65].

Les jouets peuvent être conçus de telle manière que certaines de leurs caractéristiques plairont à des enfants de moins de 36 mois alors que d'autres caractéristiques plairont à des enfants de plus de 36 mois. En réalité, il n'est pas toujours aisé ni évident de distinguer les jouets destinés aux enfants de moins de 36 mois de ceux destinés aux enfants de plus de 36 mois.

Afin de déterminer clairement la limite, le groupe d'experts a identifié quelques facteurs clés. La valeur ludique d'un jouet destiné aux enfants de moins de 36 mois pourrait être déterminée par les facteurs clés suivants :

- La psychologie des enfants de moins de 3 ans, notamment leur besoin de « câliner » ;
- Leur attirance pour ce qui est « à leur image » : bébé, petit enfant, bébé animal, *etc.* ;
- Leur développement mental, notamment capacités d'abstraction, niveau de connaissance, patience limitée, *etc.* ;
- Leurs aptitudes physiques moindres en termes d'aisance, d'adresse manuelle (le jouet peut être petit et léger afin que l'enfant puisse le manipuler facilement) [65].

Toutefois, en raison de l'utilisation de critères souvent subjectifs, même les lignes directrices les plus complètes en matière de détermination de l'âge ne permettent pas toujours d'éviter toute ambiguïté quant à l'adéquation d'un jouet particulier pour une certaine tranche d'âge [41].

I.3. ETAT DES LIEUX SUR LE MARCHE DES JOUETS

La valeur du marché mondial du jouet entre 2005 et 2021, a généralement augmenté durant cette période, et ce même durant l'année 2020 que l'on sait marquée par la crise du Covid 19 atteignant un montant de plus de 100 milliards de dollars en 2021 [66].

CHAPITRE I. GENERALITES SUR LES JOUETS

Le marché du jouet européen est le plus important au monde. Il connaît une progression depuis ces dernières années d'environ 3 à 6% par an, malgré un déclin en Europe du sud.

Environ 5000 compagnies sont affiliées à ce secteur et emploient 220000 personnes qui génèrent des ventes d'environ 16,5 milliards d'euros. Environ 88% des entreprises du jouet en Europe sont des micros entreprises de moins de 10 personnes [3].

Le secteur des jouets, est un secteur très saisonnier, qui réalise une grande partie de ses ventes (50-60%) entre novembre et décembre. La saisonnalité se retrouve plus dans le sud de l'Europe dans des pays tels que l'Espagne où environ 50% des jouets sont vendus en décembre [3].

Les catégories de jouets les plus vendues dans l'UE sont les jouets dits préscolaires et premier âge, suivis des poupées, des jeux d'extérieurs et des jeux de société/puzzles. L'ensemble des catégories citées représentent plus de la moitié des ventes de jouets en Europe. Il ne faut cependant pas oublier que des variations entre les pays sont possibles pour des jouets tels que, par exemple, les poupées, qui sont les jouets les plus vendus en Espagne et en Italie.

Enfin, même si les jouets électroniques prennent une place importante dans le marché du jouet, les jouets dits « traditionnels » tels que les peluches, poupées, véhicules et jouets pour nourrissons et enfants de moins de 3 ans restent largement plébiscités [3].

L'UE est le 1^{er} client des exportations totales mondiales, et le second fournisseur en termes d'importation. Les pays principaux en termes de production totale sont l'Allemagne, l'Italie et la France [3].

La Chine est le plus grand pays fabricant et exportateur de jouets dans le monde. Plus de 70% des jouets dans le monde sont fabriqués en Chine [67, 68].

Selon l'Association chinoise des jouets et des produits de puériculture (Toys and Juvenile Products Association TJPA), l'industrie du jouet a enregistré des exportations d'une valeur de 248 milliards de dollars américains [67, 68]. Parmi ces jouets, les jouets en plastique représentaient une grande proportion [67].

Les ventes en dollars de l'industrie américaine du jouet ont augmenté de 2% pour atteindre 11,4 milliards de dollars de ventes pour janvier-juin 2022. Les ventes à l'unité ont baissé de 6% et le prix moyen par unité de 11,30\$ a augmenté de 8% [69].

Bien que la croissance en 2022 ait été quelque peu tempérée, elle intervient après deux années de ventes record en 2021 et 2020, lorsque les ventes de l'industrie américaine du jouet ont augmenté de 20% et 18%, respectivement. Le prix de vente moyen de 11,30\$ a augmenté de 8%, ce qui correspond au taux d'inflation annuel. Toutefois, cette hausse s'ajoute à celle de 6% enregistrée l'année dernière et à celle de 19% l'année précédente [69].

CHAPITRE I. GENERALITES SUR LES JOUETS

En 2018, le marché du jouet valait plus de 40 milliards d'euros aux États-Unis, comparé à environ huit milliards d'euros en France [70].

La baisse de la natalité a un impact énorme sur le marché des jouets. En France, on a calculé que sur la tranche 0-11 ans, il y'a une perte 60 millions d'euros en 2023 versus 2022, car il y'a moins d'enfants [70].

I.4. JOUETS EN PVC

La matière plastique synthétique a été généralisée au cours des cinquante dernières années. Les plastiques artificiels couvrent une gamme très étendue de matériaux polymères et sont composés d'un polymère auquel on ajoute des plastifiants, des additifs et des adjuvants.

Les premiers polymères synthétiques industriels sont nés avec le vingtième siècle, puis ont été développés largement au cours et après la seconde guerre mondiale. Depuis, leur nombre s'est considérablement accru, ainsi que leurs usages, en raison de leurs propriétés intéressantes (transparence, résistance aux chocs) ; ils occupent désormais notre espace quotidien. Ces plastiques ont longtemps été considérés comme des matières inertes. On sait aujourd'hui que certains d'entre eux libèrent des composés potentiellement toxiques [71].

Les jouets destinés aux enfants sont fabriqués majoritairement en plastique en raison de leur faible coût et de leur durabilité [10].

Les matières plastiques utilisées dans les jouets sont :

- Le polyéthylène (Pe) ;
- Les polyesters (PES) ;
- Le polychlorure de vinyle (PVC) ;
- Le polypropylène (PP) ;
- Le polyuréthane (PU) ;
- Le polycarbonate (PC) ;
- Le poly acrylonitrile butadiène styrène (ABS) ;
- Le polyacétate de vinyle (EVA) ;
- Les époxydes (EP) [3, 13].

Le PVC ou vinyle, de l'anglais polyvinyl chloride, représente l'un des premiers plastiques, et l'une des matières plastiques les plus utilisées dans le domaine des jouets [3, 13]. C'est le polymère thermoplastique le plus vendu après le polyéthylène et le polypropylène [68].

CHAPITRE I. GENERALITES SUR LES JOUETS

Il est dérivé du chlorure de sodium (57%) et du pétrole (43%). Le PVC est obtenu par polymérisation du chlorure de vinyle monomère, lui-même issu de la réaction complexe du chlore sur l'éthylène en présence d'oxygène [3, 14].

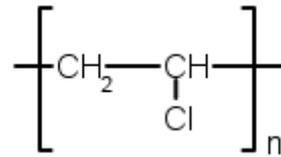


Figure 1. Formule générale du polymère PVC [14].

Le PVC ainsi obtenu est sous forme d'une poudre blanche inodore qui est mélangée avec des additifs (stabilisants et/ou plastifiants, charges, pigments, *etc.*) pour obtenir les propriétés exactes nécessaires pour des applications spécifiques. Les granules (composites) ou poudres prêtes à l'emploi (prémixes) de PVC qui en résultent sont ensuite transformés en produit final [3, 16].

Le PVC est le type de polymère le plus toxique utilisé quotidiennement (monomère et additifs), les additifs sont plus toxiques que les monomères pour la faune et les humains ; les additifs les plus toxiques sont le benzène, les phtalates et les stabilisants au plomb [12].

I.5. ADDITIFS DANS LES JOUETS EN PVC

Dans de nombreux cas et plus particulièrement en ce qui concerne les thermoplastiques, la matière brute ne pourrait être exploitée sans l'adjonction de certains constituants dont le rôle consiste soit à conférer des caractéristiques particulières aux produits finis, soit à permettre la transformation de la matière plastique, soit encore à en abaisser le prix de revient [3, 72].

Sans prétendre à l'exhaustivité et suivant les cas, on ajoute généralement :

- Des charges et agents de renfort ;
- Des colorants et pigments ;
- Des catalyseurs et des durcisseurs ;
- Des solvants ;
- Des adjuvants divers : ignifugeants, stabilisants, lubrifiants, antistatiques, fongicides, *etc.*

Tous ces produits constituent une gamme variée de composés chimiques. Suivant leur nature, ils ont une action chimique, physique ou physico-chimique au sein du polymère.

Leur importance respective dans les polymères ou mélanges polymères est très variable, suivant la nature du composant auxiliaire et le polymère ou mélange polymère considérés.

CHAPITRE I. GENERALITES SUR LES JOUETS

Leur concentration peut aller de quelques % à plus de 100% de la masse du polymère ou mélange polymère de base [14, 72].

- Des plastifiants :

Le plastifiant est défini dans la norme ISO 472 comme suit : « Substance de volatilité faible ou négligeable, incorporée à un plastique, destinée à abaisser son intervalle de ramollissement, faciliter sa mise en œuvre et augmenter sa flexibilité ou son extensibilité » [72].

Les plastifiants sont des composés généralement liquides, polymérisés ou non, de faible masse molaire (200 à 400g/mol.). Ils peuvent entrer à plus de 100% en masse de polymère dans la composition d'une matière plastique. Ils modifient les propriétés rhéologiques du polymère ou mélange de polymères, améliorent la mise en œuvre, permettent d'améliorer la souplesse du produit fini, sa tenue aux chocs et aux basses températures.

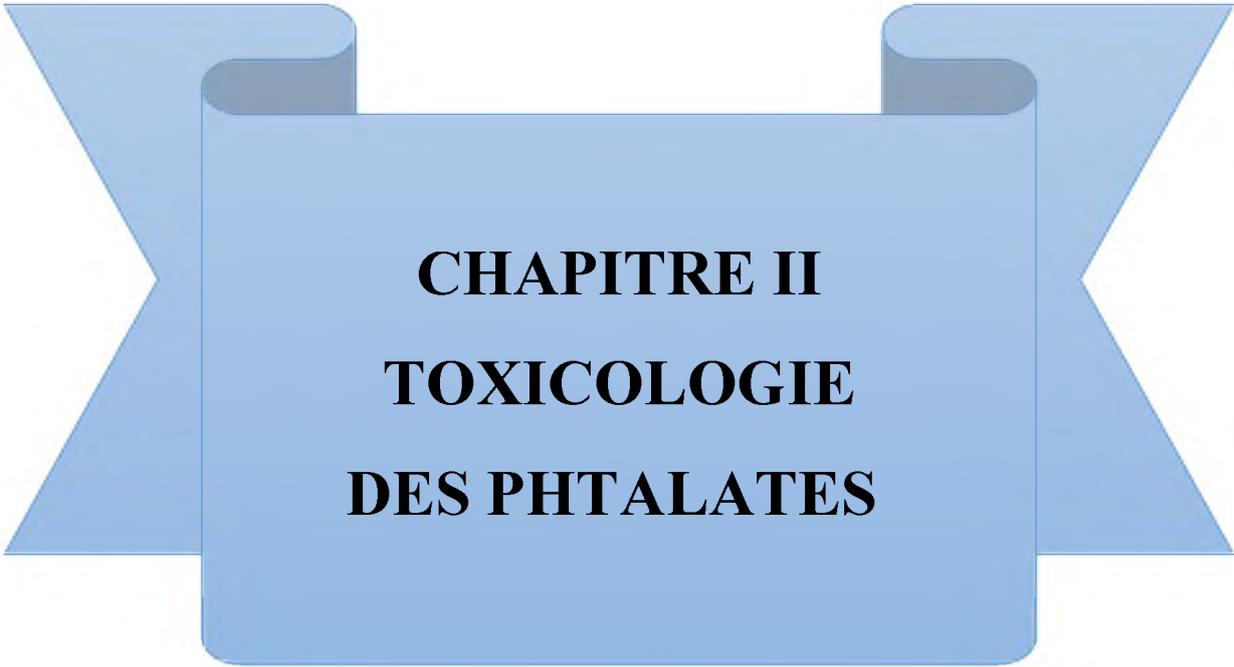
Les molécules du plastifiant agissent en affaiblissant localement les forces de cohésion intermoléculaires et rendent ainsi possible le déplacement de segments de chaînes macromoléculaires les unes par rapport aux autres, ce qui a pour effet de diminuer la rigidité de l'édifice moléculaire [72].

En distinguant plastifiants primaires et plastifiants secondaires, utilisés en association avec les premiers pour en modifier les propriétés et diminuer les prix de revient.

Un plastifiant primaire, également appelé plastifiant de base, est une substance ajoutée au moment de la fabrication du plastique. Il est mélangé directement avec la résine de base lors de la production du matériau plastique. Les plastifiants primaires sont souvent des composés organiques, tels que les phtalates, qui sont largement utilisés dans de nombreux produits en plastique. Ils jouent un rôle clé dans la souplesse et la malléabilité du matériau plastique, lui permettant de conserver sa flexibilité même à des températures basses. Ils sont ajoutés aux plastiques pour augmenter leur flexibilité, leur longévité, leur durabilité et leur transparence [21].

En revanche, un plastifiant secondaire, également appelé plastifiant externe ou co-plastifiant, est ajouté après la fabrication du plastique. Il est utilisé pour modifier les propriétés du plastique existant ou pour améliorer les performances du plastifiant primaire déjà incorporé. Les plastifiants secondaires sont souvent utilisés pour ajuster la dureté, la résistance à l'usure, la stabilité thermique ou d'autres caractéristiques spécifiques du matériau plastique [21].

Les plastifiants les plus utilisés dans le PVC sont les phtalates. Ils sont ajoutés à des concentrations variables (de quelques % jusque 50% du mélange) pour conférer une souplesse permanente aux produits finis [3].



CHAPITRE II
TOXICOLOGIE
DES PHTALATES

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

Les phtalates, généralement connus sous le nom d'esters de phtalate ou aussi ester phtaliques, sont une famille de produits chimiques synthétiques utilisés industriellement dans une grande variété de produits de consommation, principalement comme plastifiants primaire, dans des applications durables et flexibles de PVC [16, 17, 21, 73].

Les phtalates sont les plastifiants les plus utilisés dans le PVC [3, 14, 72], en plus d'être les plus couramment utilisés dans le monde [19].

En effet, le large éventail d'applications combiné à des prix relativement bas ont fait des phtalates le choix de plastifiant préféré de l'industrie du PVC depuis de nombreuses années et les phtalates représentent environ 90% de l'utilisation totale de plastifiant pour le PVC en Europe [19] et 87% du marché mondial des plastifiants pour le PVC [20].

Les plus couramment utilisées sont le phtalate de butylbenzyle (BBP), le phtalate de di-n-butyle (DBP), le DEHP et le DINP [74].

Ils sont ajoutés intentionnellement à des concentrations variables (de quelques % jusque 50% du mélange) pour conférer une souplesse et une durabilité aux produits finis [14, 15].

II.1. HISTORIQUE

Les phtalates ont été initialement produits dans les années 1920 et ils sont devenus les plastifiants les plus utilisés depuis 1933, date à laquelle le DEHP a été synthétisé pour la première fois [74-76]. Ils ont connu un essor très important dans les années 1950, lorsque le PVC est apparu [74]. L'ajout de DEHP aux PVC pour la flexibilité a été un énorme succès industriel [75].

Les phtalates sont actuellement largement utilisés dans le monde entier, non seulement comme plastifiants, mais aussi comme additifs dans des produits industriels tels que les aliments et les articles de soins personnels [75].

Le plus grand marché des phtalates au niveau mondial est la république populaire de Chine, qui représente environ 45% de l'utilisation totale. L'Europe et les États-Unis représentent ensemble environ 25% de l'utilisation, le reste étant largement réparti dans le monde entier [17]. Parmi cette production, le DEHP représente environ 50% de la production totale de phtalates, même si on observe depuis plusieurs années une diminution de sa proportion [74].

Les phtalates sont donc largement produits et peuvent être libérés dans l'environnement par les produits les contenant, lors de leur production industrielle, lors de leur utilisation et lors de leur élimination [77].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

Le marché mondial de l'anhydride phtalique - le principal composant utilisé dans la fabrication des phtalates - devrait atteindre 10 milliards de dollar américain en 2020, en raison de l'augmentation constante de la demande de produits en plastique [25].

Les phtalates à haut poids moléculaire, comme le DINP (~25%) et le DEHP (~50%) détiennent ensemble plus de 75% de la part du marché mondial des phtalates, qui devrait passer de 5,35 millions de tonnes en 2014 à 6,76 millions de tonnes en 2019. Ce qui équivaut à une augmentation de 10,39 (en 2014) à 13,89 milliards de dollars (en 2019) dans le secteur des phtalates à travers le monde, principalement dans la région Asie-Pacifique [25].

II.2. STRUCTURE CHIMIQUE

Le terme « phtalates » est généralement utilisé pour définir les esters (diesters) de l'acide *ortho*-phtalique qui est un acide dicarboxylique aromatique dans lequel les deux acides carboxyliques sont en position *ortho* sur le cycle benzénique, comme indiqué sur la figure 2 (à gauche). La structure chimique générale des phtalates est indiquée sur la figure 2 (à droite) où les chaînes latérales ester R et R' sont le plus souvent constituées de chaînes de longueur C₄ à C₁₃. Les chaînes latérales d'ester R et R' peuvent être linéaires, ramifiées ou une combinaison de ces éléments, ainsi que cycliques. En général, les deux chaînes latérales d'ester sont structurellement identiques, mais elles peuvent aussi être différentes [5, 20].

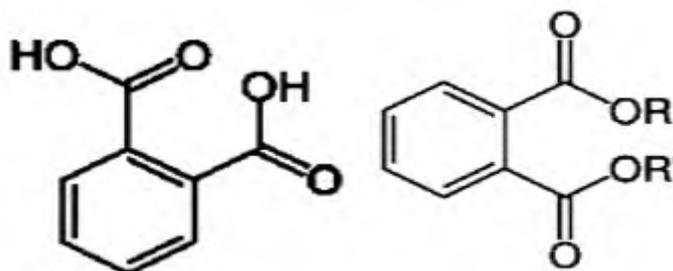


Figure 2. Structure de l'acide o-phtalique (à gauche) et des esters de l'acide o-phtalique (les phtalates, à droite) [20, 74, 78, 79].

On les trouve également sous la dénomination « esters phtaliques » car ils sont produits à partir d'une réaction entre un acide phtalique et un alcool ou plusieurs alcools à chaînes plus ou moins ramifiées [17, 79].

Ces réactions produisent 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 est fonction des radicaux substitués [17, 74].

En général :

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

- Les phtalates C₁ et C₂ ne sont pas utilisés en tant que plastifiants,
- Les phtalates C₃ à C₇ sont utilisés lorsqu'un arrangement rapide et une haute résistance sont requis (vêtement en cuir, mousse, revêtement de sol, *etc.*),
- Les phtalates C₈, C₉ et C₁₀ sont les plastifiants les plus largement utilisés, notamment pour les revêtements de sol, muraux et pour le matériel médical,
- Les phtalates C₁₁, C₁₂ et C₁₃ sont utilisés lorsqu'une stabilité à haute température est requise [74].

En règle générale, ils se répartissent en deux grands groupes distincts : les phtalates de poids moléculaire (PM) élevé (7 à 13 atomes de carbone) et les phtalates de poids moléculaire faible (3 à 6 atomes de carbone), dont les applications, les exigences légales et les propriétés toxicologiques sont différentes.

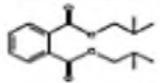
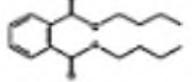
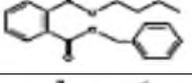
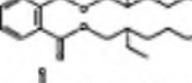
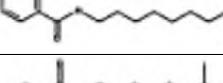
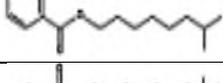
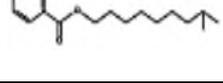
Alors que les phtalates de faible poids moléculaire, tels que le phtalate de butylbenzyle (BBP), le phtalate de di-n-butyle (DBP) et le phtalate de diéthyle (DEP), sont principalement utilisés comme solvants dans différents produits de consommation et de soins personnels, les phtalates de poids moléculaire élevé, notamment le DINP et le DEHP, sont principalement utilisés comme plastifiants pour assouplir les produits en PVC [21].

Le marché a tendance à se tourner vers les phtalates de poids moléculaire plus élevé, car ils sont moins mobiles et donc moins susceptibles de se disperser hors des produits et dans l'environnement. En outre, ils présentent un profil de risque réduit par rapport aux phtalates à chaîne moyenne (longueur du squelette carboné de 3 à 7) qui ont fait l'objet d'activités réglementaires [17].

Les phtalates avec des chaînes latérales di-ester en configuration *ortho* sur le cycle benzénique (comme le DEHP) présentent le plus grand potentiel toxique [76].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

Tableau 2. Esters de phtalates [74, 78, 80].

No.	Phtalate	CAS No.	Structure	Formule	PM
1	Di- <i>iso</i> -butyl phthalate (DIBP)	84-69-5		C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278,34
2	Di- <i>n</i> -butyl phthalate (DBP)	84-74-2		C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278,34
3	Benzyl butyl phthalate (BBP)	85-68-7		C ₁₉ H ₂₀ O ₄	312,35
4	Bis-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)	117-81-7		C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390,56
5	Di- <i>n</i> -octyl phthalate (DNOP)	117-84-0		C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390,56
6	Di- <i>iso</i> -nonyl phthalate (DINP)	28553-12-0 ^a		C ₂₆ H ₄₂ O ₄	418,61
		68515-48-0 ^b			
7	Di- <i>iso</i> -decyl phthalate (DIDP)	26761-40-0 ^d		C ₂₈ H ₄₆ O ₄	446,66
		68515-49-1 ^c			

^a Le numéro CAS 28553-12-0 est un mélange d'esters d'acide o-phtalique et d'alcools alkyles en C₉.

^b Le numéro CAS 68515-48-0 est un mélange d'esters d'acide o-phtalique et d'alcools alkyles en C₈-C₁₀ (riches en C₉).

^c Numéro CAS 26761-40-0 est un mélange d'esters d'acide o-phtalique et d'alcools alkyles en C₁₀.

^d Le numéro CAS 68515-49-1 est un mélange d'esters d'acide o-phtalique et d'alcools alkyles en C₉-C₁₁ (riches en C₁₀).

II.3. PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES

Les phtalates sont des liquides visqueux, très peu volatils, et peu ou non solubles dans l'eau [78]. Les propriétés physico-chimiques des phtalates sont résumées dans le tableau 3.

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

Tableau 3. Propriétés physico-chimiques des principaux phtalates [74, 78].

Phtalates	DBP	BBP	DnOP	DINP	DIDP	DEHP
Aspect	Liquide incolore, huileux	Liquide incolore, visqueux	Liquide légèrement jaune, huileux	Liquide incolore, huileux, visqueux	Liquide huileux, visqueux	Liquide incolore, huileux
PM (g/mol)	278,34	312,26	390,56	418,62	446,68	390,56
Point de fusion	35°C	40°C	25°C	48°C	48°C	47°C
Point d'ébullition (°C)	340	370	390	370	370	386
Tension de vapeur (Pa)	$3,6 \cdot 10^{-3}$	$8 \cdot 10^{-5}$ à 25°C	$1,3 \cdot 10^{-5}$ à 25°C	$6 \cdot 10^{-5}$ à 20°C	$5,1 \cdot 10^{-5}$ à 25°C	$1,3 \cdot 10^{-5}$ à 25°C
Densité	1,04	1,12	0,98	0,97	0,97	0,99
Solubilité dans l'eau	Faible (11,3mg/L)	Faible (2,7mg/L)	Pratiquement insoluble (0,5µg/L)	Insoluble (<1µg/L)	Insoluble (< 1µg/L)	Pratiquement insoluble (3µg/L)
Log K octanol/eau	4,45	4,59	8,06	Environ 9	Environ	7,50

Les phtalates ne sont pas chimiquement liés aux polymères plastiques. Cela explique que ces derniers puissent migrer des plastiques par contact direct (environ 2 à 50% des phtalates). De légères modifications de l'environnement comme un changement de pH, de température ou de pression, des irradiations (UV, lumière du soleil, micro-ondes, *etc.*) ou un contact avec des lipides, solvants accélèrent la lixiviation, la migration ou la vaporisation des phtalates. Ces résidus peuvent alors contaminer les milieux de vie et causer de graves dommages à l'environnement et aux humains (Figure 3) [21, 25, 76].

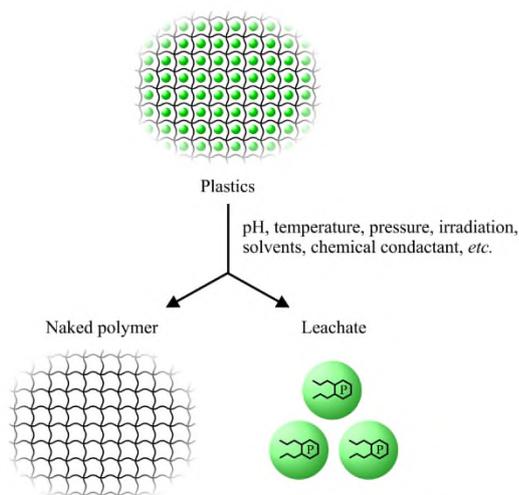


Figure 3. Migration des phtalates dans l'environnement à partir des plastiques [25].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

Outre le fait qu'ils sont facilement libérés dans l'environnement, ils sont rapidement biodégradés et photodégradés, ce qui réduit leur persistance [21].

II.4. UTILISATIONS ET SOURCES D'EXPOSITION

L'utilisation des différents types de phtalates dépend surtout de leur PM. Les phtalates de haut poids moléculaire comme le DEHP, le DINP et le DIDP sont les phtalates produits en plus grandes quantités et sont utilisés dans les matériaux de construction, les vêtements et les meubles. Ils sont utilisés pour apporter flexibilité et élasticité au PVC.

Les phtalates de bas PM comme le diéthyle phtalate (DEP), le diméthyle phtalate (DMP) et le dibutyle phtalate (DBP) sont utilisés comme solvants et adhésifs, dans les cires, encres, cosmétiques, insecticides et produits pharmaceutiques [71].

L'utilisation généralisée des phtalates s'explique à la fois par leur prix relativement bas et par les diverses propriétés qu'ils confèrent, notamment aux produits en plastique.

L'organisme industriel « American Chemistry Council » cite de nombreux avantages techniques de l'utilisation des phtalates, notamment :

- Ils peuvent faire face à des conditions météorologiques changeantes, en conservant leur flexibilité dans des conditions de froid et en résistant à la dégradation à des températures élevées, ce qui les rend techniquement adaptés à une variété d'applications extérieures ;
- Ils sont durables, résistants à la chaleur et ont une bonne résistivité électrique, ce qui permet de les utiliser largement pour le gainage des fils et câbles électriques ;
- Le PVC souple est facile à nettoyer, ce qui permet de l'utiliser largement pour les revêtements de sol ;
- Les phtalates sont incolores et n'affectent donc pas l'aspect esthétique du PVC et n'interagissent pas avec d'autres colorants [17].

On distingue deux grands types d'utilisation des phtalates, sachant que chaque phtalate est susceptible d'être utilisé dans les deux types d'usage :

II.4.1. Utilisation en tant que plastifiants

Plus de 90% des phtalates produits dans l'UE, soit un peu moins de un million de tonnes, sont utilisés en tant que plastifiants. Ils permettent de rendre un matériau (le plus souvent un plastique) flexible, résilient et plus malléable.

Les consommateurs ne les utilisent jamais seuls puisqu'ils sont toujours incorporés dans un produit de consommation, comme par exemple un objet en PVC. La majorité des articles rigides, semi-rigides (environ 65% des utilisations) ou souples à base de PVC contiennent

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

donc des phtalates [74]. La consommation des phtalates en Europe est d'environ un million de tonnes par an [22, 78].

Ils sont principalement utilisés comme plastifiants pour rendre le PVC souple et flexible. Ils ont des applications plus limitées comme plastifiants de résines et polymères autres que le PVC [22, 78]. Le PVC souple représentant plus de 80% de la consommation mondiale de plastifiants [17].

Le PVC non plastifié est un matériau rigide, l'ajout du plastifiant rend le PVC flexible et utilisable dans de nombreuses autres applications, notamment les équipements médicaux [17]. Ainsi, leur proportion dans certains produits de manipulation quasi-quotidienne peut atteindre jusqu'à 50% (en poids) des matériaux en PVC [17]. C'est par exemple le cas des sacs plastiques, des emballages alimentaires, des jouets pour enfants, des dispositifs médicaux et des contenants pour le stockage du sang [76].

En plus faible quantité, les phtalates sont également présents dans les anneaux de dentition, les nappes, les tuyaux, les rideaux de douches, les colles, les lubrifiants, les fils et câbles, les couvertures plastifiées, *etc.* [74].

L'effet plastifiant des phtalates diminue avec l'augmentation de la longueur des groupes fonctionnels : DBP > BBP > DEHP > DINP > DIDP. Par conséquent, des charges plus élevées sont nécessaires pour obtenir un certain niveau de douceur pour les phtalates ayant des groupes fonctionnels plus longs [19].

Les jouets constituaient une source d'exposition importante pour les enfants notamment du fait qu'ils ont tendance à les porter à la bouche pour les mâcher, les sucer, voire en avaler de petits morceaux. Les enfants ont souvent tendance à être plus exposés aux phtalates que les adultes [76].

Le DEHP était le plastifiant le plus utilisé dans les jouets souples en PVC, en raison de son faible coût [2, 20, 29, 33]. La teneur en DEHP des matériaux polymères souples varie, mais se situe souvent autour de 30% en poids [19].

Parmi tous les phtalates, le DEHP suscite le plus d'inquiétudes, avec plus de deux millions de tonnes produites annuellement [20]. Cependant, en raison de la preuve de toxicité de DEHP, il a été remplacé progressivement par le DINP dans les produits pour enfants, moins toxiques avec des performances proches à celle du DEHP et des coûts modérément plus élevés. Le DINP est actuellement le plastifiant le plus utilisé dans les jouets pour enfants [26, 29, 30, 35].

Les phtalates sont de moins en moins utilisés en Europe et aux USA mais que leur utilisation est toujours importante en Asie ; d'où la forte probabilité que des jouets importés puissent contenir des phtalates tels que le DEHP [19].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

Les jouets en plastique sont la principale source de DINP pour les jeunes enfants [71, 81].

Les expositions aux phtalates *via* les jouets ont été diminuées en Europe grâce à la limitation de l'utilisation des phtalates lors de leur fabrication [74].

II.4.2. Autres utilisations

On retrouve également certains phtalates dans plusieurs produits de consommation courante :

- Les adhésifs ;
- Les revêtements de sol en vinyle ;
- Les huiles lubrifiantes ;
- Les condensateurs électriques ;
- Les détergents ;
- Les solvants ;
- Les produits pharmaceutiques ;
- Les fils et les câbles électriques ;
- Les produits cosmétiques.

Dans ces cas, ils permettent par exemple d'éviter que le vernis à ongles 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 [74, 76].

II.5. VOIES D'EXPOSITION

Les phtalates sont omniprésents : dans les aliments, l'eau, le lait maternel, l'air respiré, le sol, la poussière, les vêtements, les maisons d'habitation, les jouets pour enfants, *etc.* [25].

L'exposition aux phtalates et leur absorption peut avoir lieu par inhalation, ingestion ou par voie cutanée [21].

II.5.1. Par inhalation

En raison de la très faible tension de vapeur des phtalates ($<10^{-4}$ Pa), l'exposition *via* l'inhalation de vapeurs apparaît négligeable [74].

Une absorption de phtalates par inhalation peut se produire en ateliers, lors de leur transformation ou de leur application, quand ceux-ci sont utilisés à chaud et sous pression, ou sous forme d'aérosols à fortes teneurs en phtalates [79].

Le consommateur est exposé à faibles concentrations émanant des intérieurs de véhicules, matériaux de construction, cosmétiques, adhésifs, *etc.* Certains phtalates se retrouvent également dans la poussière de maison [79].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

II.5.2. Par ingestion

Certains aliments contiennent de petites quantités de phtalates, suite à leur migration depuis les emballages plastiques. Cette migration se fait parfois sous l'effet de la chaleur, lors d'un passage au four à micro-ondes par exemple. La plupart des phtalates sont interdits dans les objets de puériculture et jouets susceptibles d'être portés à la bouche par les enfants [79].

Pour les enfants âgés de moins de 3 ans et pour les jouets destinés à être mis en bouche, l'exposition orale est la voie d'exposition systémique la plus pertinente [41].

Pour les phtalates dans leur ensemble, on considère aujourd'hui que la voie d'exposition majoritaire est la voie orale pour la plupart des nourrissons et enfants [71].

Le simple contact de la bouche et de la salive d'un enfant avec ses jouets peut contracter les phtalates et les transformer rapidement en leurs métabolites respectifs [21].

II.5.3. Par contact cutané

Quant à l'exposition par la voie cutanée, elle n'est que très peu documentée, mais il semblerait que la peau soit une barrière suffisante pour que l'exposition soit considérée comme négligeable par rapport aux autres. L'absorption cutanée serait cependant facilitée pour les phtalates à courte chaîne tels le DEP, le DBP ou encore le BBP [74].

Le risque d'exposition n'est notable qu'en cas de contact prolongé avec des articles contenant d'importantes concentrations en phtalates. Notamment dans les dispositifs médicaux ou encore les jouets pour enfants. Les risques potentiels concernent surtout les travailleurs amenés à les manipuler, lors de la fabrication d'articles en PVC par exemple [79].

Toutes les voies de contamination (ingestion, inhalation et cutanée) sont des voies d'exposition aux phtalates. Cependant, leur contribution à l'exposition totale va dépendre en particulier de la population (adultes ou enfants) et des milieux. Déterminer avec exactitude la contribution de chaque milieu/voie d'exposition n'est pas envisageable du fait de la multitude d'études et de modèles réalisés sur le sujet avec des modes opératoires différents, sur des phtalates différents, et avec des résultats qui ne sont pas toujours comparables [79].

Toutefois, les études et modèles sont concordants quant à l'ordre de grandeur de la dose absorbée pour ces différents couples. Ils sont résumés dans le tableau 4.

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

Tableau 4. Contribution de chaque couple milieu/voie d'exposition à l'exposition totale des très jeunes enfants (en dessous de 3 ans) [79, 82].

Voie d'exposition	Milieux	Ordre de grandeur des doses absorbées (/kg/j)
Inhalation	Air et vapeur	De l'ordre du ng
	Poussières	De l'ordre du 10 ^{ème} de ng
Ingestion	Aliments	De l'ordre du µg à la 10 ^{ème} de µg
	Jouets	De l'ordre de la 100 ^{ème} de µg
Cutanée	Jouets	De l'ordre du µg
	Sol	Pas de données

Les nourrissons et les enfants sont plus susceptibles d'être exposés aux phtalates en raison de leur comportement main-bouche. De tous les moyens d'exposition, les aliments et les boissons sont les principales voies d'exposition au DEHP et au DINP, en plus des contacts cutanés et de l'inhalation, y compris l'exposition professionnelle, les ingestions non alimentaires et l'exposition médicale [25].

L'exposition la plus importante est observée lors d'ingestion d'aliments, elle est en général plus importante chez les enfants, ce qui vient du fait qu'ils ingèrent une plus grande quantité de nourriture par rapport à leur poids corporel.

Sinon *via* les jouets et les poussières pour les enfants s'expliquant par le syndrome Pica [74, 79]. *Via* les jouets, les phtalates les plus impliqués étaient (du moins avant leur restriction) le DINP (exposition estimée entre 5 et 44µg/kg/j) et le DEHP (exposition allant jusqu'à 85µg/kg/jr) [74].

Le tableau 5 résume les principales sources et voies d'exposition pour certains phtalates [74, 81].

Tableau 5. Principales sources et voies d'exposition pour certains phtalates [74, 81].

Phtalates	Source et/ou voie principale d'exposition
DMP	Air intérieur
DEP	Produits de soin
DBP, DEHP	Alimentation Ingestion de terre et syndrome de Pica (enfants et jeunes enfants)
BBP, DIDP, DINP	Syndrome de Pica et ingestion de poussières (enfants et très jeunes enfants)

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

II.6. TOXICOCINETIQUE

Des observations toxicocinétiques ont été réalisées pour les différentes voies d'exposition pour différentes espèces. Peu de données sont disponibles pour l'homme [79, 82, 83].

Parfois, les résultats obtenus à partir d'études menées sur les animaux ne sont pas extrapolables à l'homme [74].

Une fois absorbés, les monoesters sont distribués dans différents tissus, sans qu'aucune accumulation ne soit observée. La plupart des phtalates ont pour organe cible le foie. Ensuite les monoesters subissent une série d'oxydations. Les phtalates ont des demi-vies courtes [84]. L'excrétion intervient rapidement, principalement par voie urinaire. Les métabolites libres sont sous formes libres ou glucuroconjuguées [79].

II.6.1. Absorption

Il est généralement admis qu'après administration par voie orale, les phtalates (diesters) sont intensément hydrolysés par des estérases non spécifiques présentes dans le tissu intestinal, et presque intégralement absorbés sous la forme de monoesters. Ces estérases agissent également dans d'autres tissus tel le foie. Les études menées sur le rat montrent que la dose ingérée est très rapidement absorbée par le tractus gastro-intestinal. Jusqu'à 50% des doses ingérées peuvent être absorbées. Cependant, les études menées sur l'homme montrent que l'absorption est plus lente que chez le rat [74, 76].

L'inhalation est une voie peu étudiée. Peu de données sont disponibles. Seules quelques-unes existent et montrent qu'une absorption sous forme d'aérosol est possible [74].

Les études chez le rat montrent que l'absorption cutanée est limitée. De plus, des études comparatives *in vitro* ont montré que l'absorption cutanée chez l'homme est encore plus faible que chez le rat. Entre 2 et 5% seulement de la dose appliquée est absorbée [74, 76].

II.6.2. Distribution

Une fois absorbés, les monoesters sont distribués dans différents tissus, sans qu'aucune accumulation ne soit observée. La plupart des phtalates ont pour organe cible le foie [74].

Les phtalates peuvent traverser le placenta, ce qui a un impact négatif sur les *fœtus* et les nouveau-nés [25].

II.6.3. Métabolisme

Dans l'organisme, les diesters d'acide phtalique sont rapidement métabolisés au cours d'une succession de réactions enzymatiques [85]. On distingue deux réactions majeures. Lors de la réaction de phase I, le diester de phtalate est hydrolysé au niveau d'une des chaînes carbonées de sa structure en monoester, produisant de ce fait son monoester primaire

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

correspondant (Figure 4). Ces métabolites primaires sont considérés comme les composés biologiquement actifs des diesters respectifs. Cette première phase de métabolisation a lieu majoritairement au niveau de l'intestin et de différents organes parenchymateux et est catalysée par des lipases et estérases [85].

Les phtalates à courtes chaînes relativement polaire ainsi que les phtalates à ramifications courtes (nombre de carbone < 8), tels que DMP, DEP, DnBP, DiBP sont rapidement hydrolysés en monoesters. Les diesters à longues chaînes comme le DEHP contrairement aux phtalates à courtes chaînes subissent une série de métabolisations secondaires aboutissant à des monoesters secondaires.

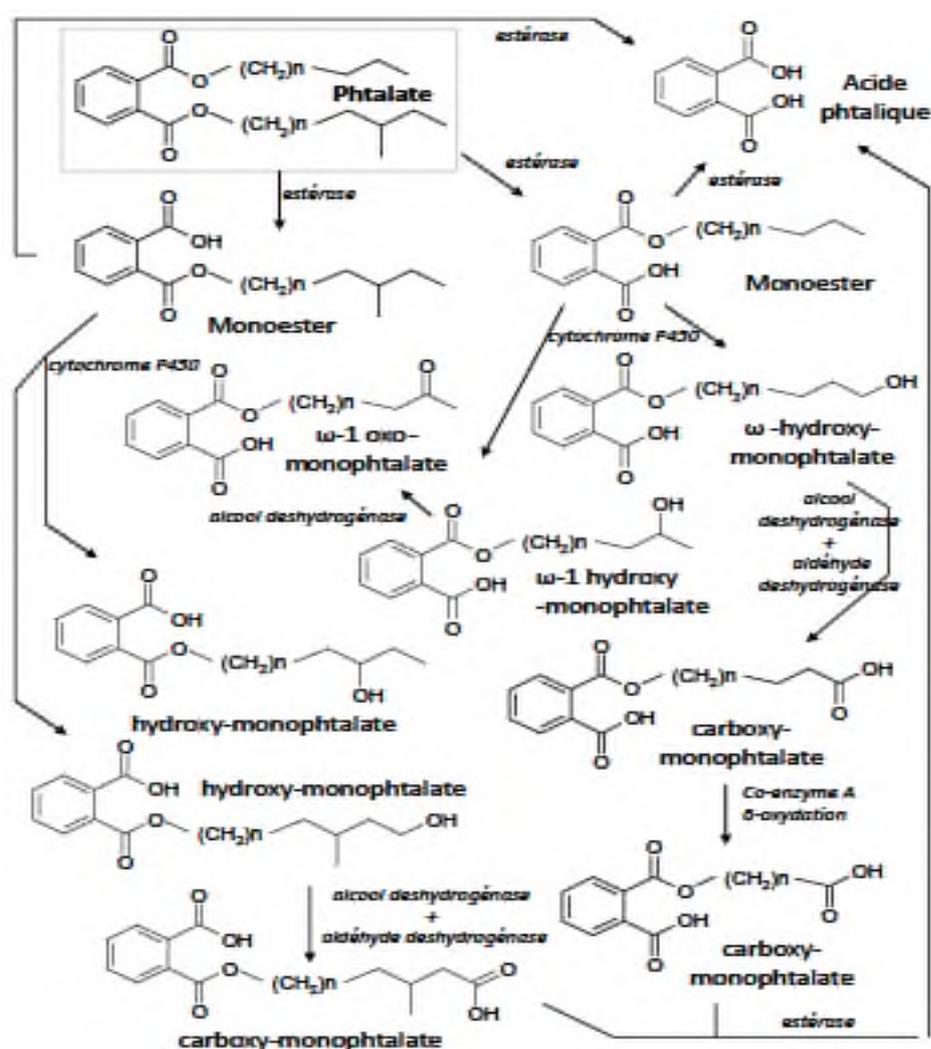


Figure 4. Principales voies métaboliques de phase I des phtalates chez les rongeurs et chez l'homme [83, 86].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

Le DEHP est largement métabolisé après absorption (Figure 5) [85]. La première étape de métabolisme du DEHP est catalysée par des lipases non spécifiques localisées au niveau de l'intestin et du pancréas. Cette réaction rapide d'hydrolyse conduit à la formation de deux métabolites primaires, le mono-2-ethylhexyl phtalate (MEHP) considéré comme le métabolite actif de DEHP et le 2 ethylhexanol. Le MEHP peut ensuite subir une série de transformations biochimiques composées d'hydroxylations et d'oxydations de la chaîne aliphatique amenant à la synthèse des différents métabolites secondaires de DEHP. Ces oxydations sont produites par l'action des monooxygénases cytochrome P450 dépendantes. D'autres étapes d'oxydation peuvent avoir lieu, catalysées principalement par les alcools deshydrogénases, et conduire à la formation d'un dérivé oxo ou d'un aldéhyde ; ce dernier, pris en charge par l'aldéhyde deshydrogénase, donnant lieu à une fonction carboxylique. Le métabolite carboxylé peut ensuite subir une série de β -oxydations ou de décarboxylations ce qui a pour effet de réduire la longueur de la chaîne carboxylée [86]. Il existe environ une quinzaine de métabolites secondaires de DEHP dont les principaux sont le mono-2-ethyl-5- hydroxyhexyl phtalate, le mono -2-ethyl-5- oxo hexyl phtalate, le mono -2 -ethyl-5-carboxypentyl phtalate et le mono -2-carboxymethyl hexyl phtalate [25, 75, 83].

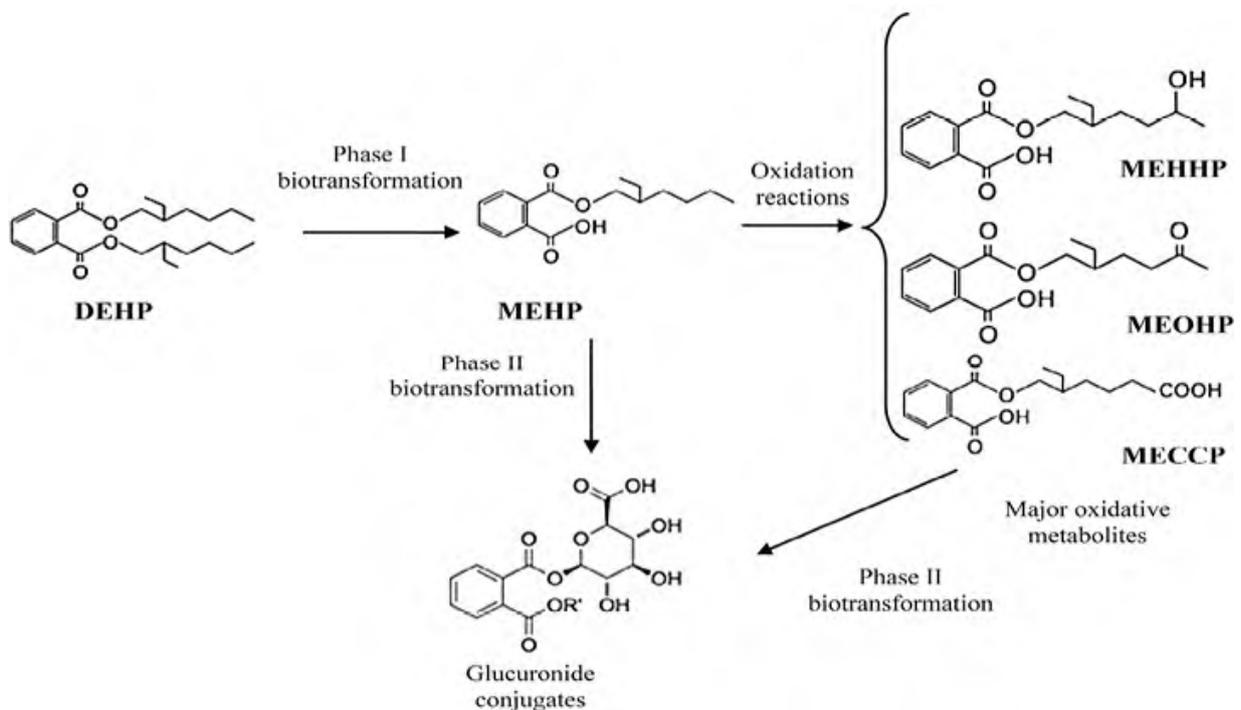


Figure 5. Métabolisme de DEHP [83].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

Après 44 heures (h) d'exposition au DEHP, 47% étaient excrétés dans l'urine sous forme de MEHP (7,3%), de 5OH-MEHP (24,7%) et de 5oxo-MEHP (14,9%), ce qui indique que la demi-vie de DEHP dans le corps humain est d'environ 48h [87].

La glucuro-conjugaison est une étape importante du métabolisme et de l'élimination. Or ce mécanisme n'est fonctionnel qu'à l'âge de 3 mois chez l'enfant. En effet l'activité de la glucuronyl-transférase n'est que de 5% à la naissance et atteint son maximum à 3 mois. Cela explique en partie la vulnérabilité accrue des *fœtus* et des nouveaux nés [88]. Les enfants représentent un groupe à risque plus élevé aux effets toxiques par rapport à la population générale [85].

II.6.4. Élimination

L'excrétion est rapide, elle se fait principalement par voie urinaire et parfois par voie fécale. Les métabolites urinaires sont éliminés sous formes libre ou glucuroconjuguées.

Dans une étude faite sur des volontaires, 67% de DEHP est excrété dans les 24h alors que 3,8% peut être excrété dans les 48h après absorption d'une seule dose. Au niveau du plasma le principal composé trouvé est le MEHP [75, 83].

Ils existent environ une quinzaine de métabolites secondaires du DEHP dont les principaux sont le 5-ox-MEHP et le 2-oxo-MMHP qui ont une demi-vie plus longue que celle de MEHP, ce qui les rend des biomarqueurs de choix pour l'évaluation de l'élimination rénale en temps réel du DEHP tandis que le 5-OH-MEHP et le 5-oxo-MEHP sont des excellents biomarqueurs de l'évaluation de l'exposition à court terme de DEHP [85].

MEHP n'est qu'un métabolite limité, il représente en effet moins de 10%, avec la demi-vie d'élimination la plus courte [85].

Le tableau 6 montre les différents métabolites des diesters phtaliques [75].

Tableau 6. Différents métabolites de DEHP et DINP [75].

Composés parents	Métabolites correspondants
DEHP	Mono (2-ethylhexyl) phthalate (MEHP) Mono (2-ethyl-5-hydroxyhexyl) phthalate (MEHHP/5OH-MEHP) Mono(2-ethyl-5-oxohexyl) phthalate (MEOHP/ 5oxo-MEHP) Mono(2-ethyl-5-carboxypentyl) phthalate (MECPP/ 5cx-MEPP) Mono(2-carboxy-hexyl) phthalate (MCMHP/ 2cx-MMHP)
DINP	Mono- <i>iso</i> -nonyl phthalates(MINP) MHiNP ou OH-MINP, MOiNP ou oxo-MINP, MCiOP ou cx-MNP

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

II.7. MECANISME D’ACTION TOXIQUE

II.7.1. Mécanisme d’action moléculaire

Grâce à des études *in silico*, *in vitro* et *in vivo*, les phtalates sont révélés capables de se lier ou interagir avec divers récepteurs [89, 90].

Les principales cibles des phtalates chez les mammifères parmi les récepteurs nucléaires sont les récepteurs « Activés par les Proliférateurs de Peroxysomes (*PPAR*) » α et γ . Ce sont des récepteurs nucléaires liant naturellement les lipides et agissant comme facteur de transcription des gènes cibles impliqués notamment dans le métabolisme et l’adipogenèse [91]. Ces récepteurs nucléaires, régulent la transcription des gènes cibles après d’être liés en tant que facteurs de transcription homo- ou hétéro-dimères sur les éléments réactifs situés en amont du gène cible [25].

L’action sur les récepteurs *PPAR* liés à l’adipogenèse permet de faire le lien entre phtalates et obésité [92]. Le mécanisme de perturbation endocrinienne des phtalates est fondé sur la médiation des *PPAR* [25].

Les phtalates les plus actifs sur les récepteurs *PPAR* sont le DEHP (et son métabolite le MEHP), le BBP, DBBP et le DIBP [91].

De plus, un des effets majeurs des phtalates et notamment le MEHP pourrait être une inhibition de l’expression de l’aromatase médiée majoritairement par l’intermédiaire des récepteurs *PPAR*. L’aromatase est une enzyme responsable de la biosynthèse des œstrogènes. Elle fait partie de la superfamille des cytochromes P450, dont la fonction est d’aromatiser les androgènes et ainsi de produire des œstrogènes [91].

Les récepteurs des œstrogènes α et β , le récepteur des androgènes, les récepteurs des xénobiotiques *CAR* (constitutive activated receptor) et *PXR* (pregnan X receptor) ont été également identifiés comme des médiateurs possibles des effets de ces molécules (Figure 6) [92].

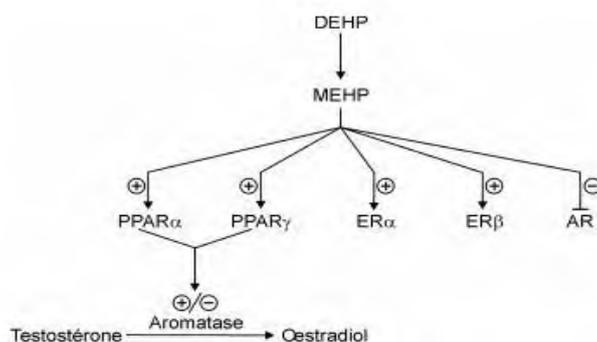


Figure 6. Mécanisme d’action et cibles des phtalates [93].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

En utilisant un dispositif de docking moléculaire, les scientifiques ont évalué une variété d'interactions moléculaires de 12 phtalates couramment utilisés et des monophtalates respectifs avec les domaines de liaison du ligand du récepteur humain activé par les proliférateurs de peroxyosomes α , β ou γ (*PPAR*), des récepteurs X des rétinoïdes (*RXR α,β,γ*), du récepteur X du prégnane (*PXR*), des œstrogènes et des cétostéroïdes (androgènes, progestérone, glucocorticoïdes et minéralocorticoïdes), les principaux régulateurs nucléaires du métabolisme des xénobiotiques. Il a montré que les phtalates et leurs monoesters ont une forte interaction avec ces récepteurs par rapport à leurs agonistes naturels [94-97].

Les *RXR*, un autre récepteur nucléaire, sont le partenaire commun d'hétérodimérisation de divers récepteurs nucléaires, notamment les *PPAR*, le récepteur *PXR*, le récepteur constitutif des androstanes (*CAR*), le récepteur du X du foie (*LXR*), le récepteur du X des farnésoïdes (*FXR*)/récepteur de l'acide biliaire (*BAR*) et le récepteur des hormones thyroïdiennes (*TR*) [25, 90]. Les phtalates agiraient sur le récepteur des hormones thyroïdiennes *TR* [92]. Le *TR*, qui est le principal acteur de la régulation du métabolisme et de l'homéostasie du cholestérol et des hydrates de carbone, par le biais de liens moléculaires directs avec d'autres récepteurs nucléaires (principalement *PPAR*, *LXR*, *BAR*, récepteur des androgènes, *etc.*) au sein du système ; ainsi, le *TR* module la sensibilité hépatique à l'insuline et la néoglucogenèse hépatique [25].

Le DEHP et le bisphénol A ont montré une plus grande interaction avec les *RXR* ; ce qui donne un indice de l'effet combiné de divers xénobiotiques dans la transmission d'un effet cumulatif sur les résultats de santé [94-97].

Un autre mécanisme possible est un mécanisme *AhR* non génomique impliquant la signalisation de la protéine G induite par les phtalates [98].

Des preuves biophysiques récentes montrent que les phtalates hydrophobes sont amenés dans le cytosol sous forme d'un complexe phtalate-protéine. Les protéines intracellulaires innées de liaison aux acides gras (*FABP*) comme les *FABP* intestinales (*I-FABP*) et hépatiques (*L-FABP*) peuvent se lier aux phtalates circulants [99]. Les phtalates qui atteignent le système digestif se lieraient à la *I-FABP* ; cela augmenterait la solubilité cytosolique des phtalates, facilitant ainsi leur transport de la lumière intestinale à travers l'entérocyte vers les sites de distribution et de métabolisme [99] ; ou ils peuvent être transportés sous forme de complexe phtalate-*HSA* (albumine sérique humaine) vers la cible [25].

Les phtalates hydrophobes comme le complexe phtalate-*FABP* ou phtalate-*HSA* seront ciblés vers les récepteurs hormonaux sur les glandes ou le transporteur membranaire. Ce complexe est facilement transporté à travers la membrane liée au récepteur ou le transporteur vers

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

le cytoplasme ; de là, il entre facilement dans le nucléoplasme (probablement à travers les pores nucléaires) ; ensuite, le composant phtalate en tant que co-activateur est transféré du transporteur et se lie en tant que co-activateur à la protéine de récepteur nucléaire appropriée (*PPAR* ou *PXR* ou *CAR*) résidant dans le nucléoplasme. Ce complexe phtalate-*PPAR* ou phtalate-*PXR* ou phtalate-*CAR* ou de tels complexes seront probablement hétérodimérisés avec le complexe *RXR*-acide rétinoïque (ou le phtalate lui-même agit comme co-activateur du *RXR*). Cet hétérodimère, en tant que facteur de transcription, se fixera en amont du gène cible responsable de la biosynthèse des hormones, et de ceux impliqués dans le métabolisme des xénobiotiques, en particulier le système du cytochrome P450. Par conséquent, les gènes cibles seront exprimés ou surexprimés (par l'effet d'imitation des phtalates en tant que ligand naturel de l'hormone) ou supprimés ou déprimés (la régulation négative).

Les phtalates se lient au récepteur ou à l'activateur sous sa forme diester et monoester, mais plus préférentiellement les monoesters avec les *PPAR/RXR*s, *PXR*, les œstrogènes et les cétostéroïdes [94-97].

Sur la base de ces informations présentées, le mécanisme suivant explique la signalisation nucléaire impliquant les phtalates (Figure 7) :

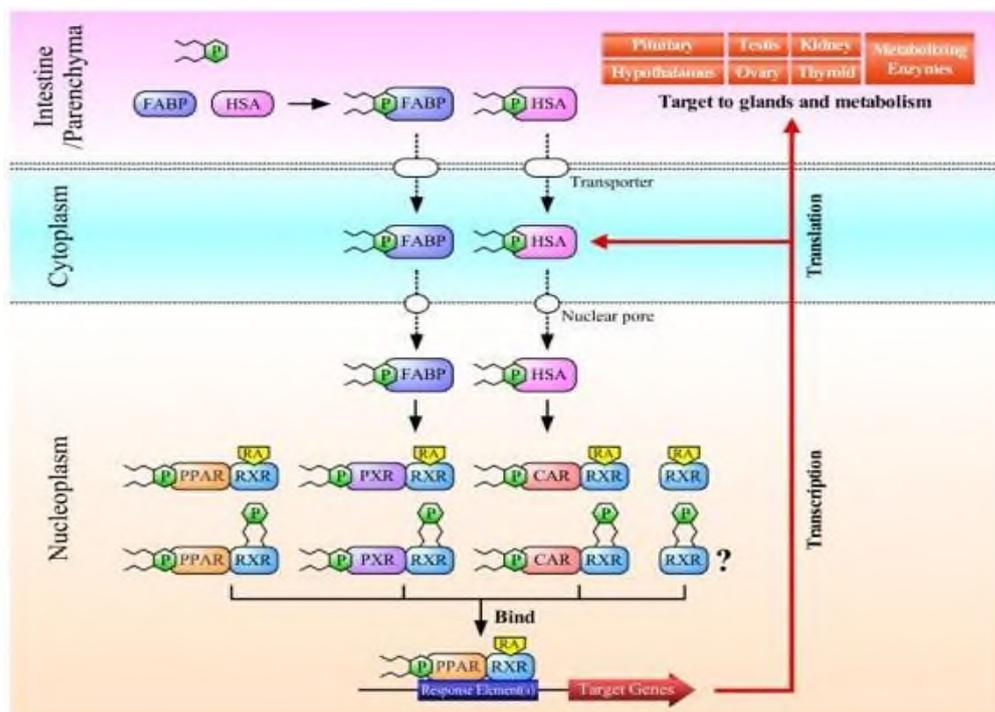


Figure 7. Mécanisme de signalisation moléculaire plausible des phtalates chez l'homme [25].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

II.7.2. Modulation épigénétique

Le concept évolutionniste traditionnel sur le phénotype épigénétique transgénérationnel repose principalement sur la mutation génétique comme principale source de variabilité. À l'inverse, la modulation épigénétique médiée par les perturbateurs endocriniens peut reprogrammer l'empreinte épigénétique innée ou la mémoire épigénétique en modifiant l'expression des gènes (transcription et traduction, et expression des microARN non codants), ce qui entraîne un héritage épigénétique illustré par les maladies de l'adulte [100].

Le DEHP a fait l'objet d'études intensives en relation avec son impact sur l'hérédité épigénétique et les maladies de l'adulte. La génotoxicité des phtalates s'exercerait généralement par le biais de la méthylation et de la déméthylation de l'ADN et de l'altération de la chromatine par l'histone dans les régions promotrices des gènes (Figure 8).

Les phtalates peuvent se lier aux queues d'histones, modifiant ainsi l'étendue de l'ADN enroulé autour d'elles et la disponibilité des gènes à être activés [101, 102].

La méthylation ou la déméthylation de l'ADN et la condensation de la chromatine au niveau de la région promotrice des gènes critiques par le biais de modifications des histones et de la phosphorylation des protéines exprimées sont les principales modifications épigénétiques apportées par les phtalates [25].

Au cours de la méthylation, des groupes méthyles peuvent marquer la base cytosine. Ces groupes méthyles se projettent dans le sillon majeur de l'ADN et inhibent la transcription ; ainsi, si les îles CpG de la région promotrice d'un gène sont méthylées, l'expression de ce gène est réprimée. Le processus de déméthylation est nécessaire à la reprogrammation épigénétique des gènes et est également directement impliqué dans de nombreux mécanismes pathologiques importants tels que la progression des tumeurs et le diabète [100].

L'exposition au DEHP chez les rats *Wistar* gravides a gravement affecté l'homéostasie du glucose et altéré la signalisation de l'insuline en régulant à la baisse l'expression du transporteur de glucose (*Glut4*), médiée par une méthylation accrue de l'ADN et une structure chromatinienne serrée au niveau de la région promotrice de *Glut4*, ainsi qu'une phosphorylation accrue de *Glut4* à *Ser488*. L'exposition gestationnelle aux phtalates prédispose aux dysfonctionnements glucométaboliques à l'âge adulte chez les générations suivantes, en altérant la fonction des gènes critiques [100].

L'exposition maternelle au DEHP chez la souris a révélé un dysfonctionnement testiculaire médié par une hyperméthylation de l'ADN conduisant à l'expression accrue des méthyltransférases de l'ADN pour la méthylation de l'ADN et la régulation à la baisse de l'insuline comme l'hormone-3, un gène essentiel pour la production de testostérone [101].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

Il a été démontré que le DEHP et le DBP influencent fortement les maladies de l'âge adulte, notamment les anomalies pubertaires, les maladies ovariennes (ovaire polykystique et insuffisance ovarienne primaire), le dysfonctionnement des testicules et l'obésité, par le biais de l'héritage épigénétique transgénérationnel chez le rat [102]. Elle a été médiée par une méthylation différentielle de l'ADN (épimutation) au niveau des régions promotrices des gènes d'empreinte pour la mémoire épigénétique, en particulier du gène du récepteur 2 du facteur de croissance analogue à l'insuline (*Igf2r*) hérité du père et du gène 3 exprimé par le père (*Peg3*) [102, 103].

Dans une autre étude, le DEHP a inhibé les changements apoptotiques comme la condensation chromatique, la fragmentation nucléaire et le clivage de la poly (ADP-ribose) polymérase dans les cellules de *Sertoli TM5* et a favorisé la progression de la tumeur par la régulation négative de la communication intercellulaire de la jonction lacunaire, effectuée par la diminution de la phosphorylation de Connexin43 [104].

Les phtalates comme le DBP peuvent induire une hypométhylation de l'ADN dans la région riche en *CpG* du promoteur du gène *c-myc* dans le foie des rats par l'activation des *PPAR*, favorisant ainsi le cancer. En utilisant la technique de transplantation de spermatozoïdes chez la souris, il a été démontré que le DEHP diminue le nombre de spermatozoïdes et leur motilité jusqu'à la génération F₄ en perturbant l'organisation testiculaire et les cellules souches spermatogoniques [105].

La différenciation sexuelle peut également être dérégulée par l'axe hypothalamus-hypophyse-gonadal par la régulation épigénétique des gènes de la granuline et de la *p130* [106].

Chez l'homme, l'exposition prénatale aux phtalates, y compris le DEHP, a fortement déméthylé les gènes *Igf2* et *H19* exprimés par la mère, qui jouent un rôle crucial dans la croissance embryonnaire et placentaire [107].

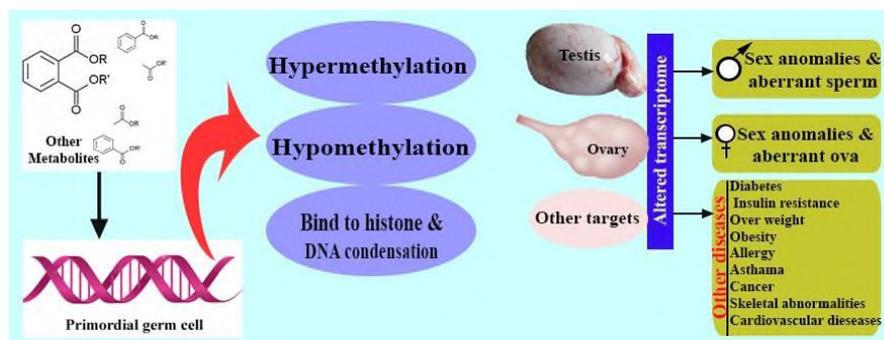


Figure 8. Mécanismes de signalisation moléculaire plausible vis-à-vis de la modulation épigénétique des phtalates [25].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

II.7.3. Action sur le système reproducteur mâle et femelle

a. Action sur le système reproducteur mâle

Les mécanismes moléculaires responsables de l'effet délétère des phtalates sur le développement du testicule fœtal et sur la fonction de reproduction masculine sont à l'heure actuelle très mal connus. Un certain nombre de données ont néanmoins permis d'établir quelques hypothèses quant à leurs modes d'action [82].

L'impact des phtalates sur l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadique (axe *HPG*) pourrait jouer un rôle critique dans les systèmes reproducteur et immunitaire [106, 108], avec l'implication de multiples voies dans le maintien de l'homéostasie des stéroïdes et la biosynthèse des hormones stéroïdes (Figure 9) [108]. Les études épidémiologiques et expérimentales sur les animaux ont montré que le syndrome de dysgénésie testiculaire est dû à l'altération des fonctions de *Sertoli* (qui inhibe la progression de la méiose pendant la spermatogenèse et la spermiogénèse) [109] et à l'inhibition de la production de testostérone (produit de la cellule de *Leydig*) par la suppression du facteur de croissance 3 analogue à l'insuline (*Igf-3*) [110]. Une hyperplasie des cellules de *Leydig* a été observée en raison de l'expression accrue de protéines de survie comme *TRPM-2* et *Bcl-2* et de la régulation négative du récepteur *c-kit* (crucial pour le développement et la fonction testiculaires) [25, 111, 112] (Figure 9).

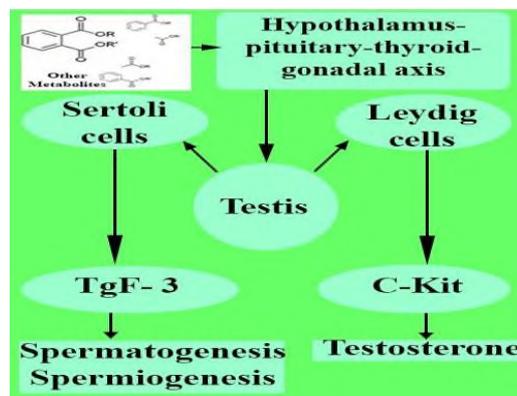


Figure 9. Mécanisme de signalisation moléculaire plausible provoqué par les phtalates et leurs métabolites pour expliquer les dysfonctionnements dans le système reproducteur masculin [25].

b. Action sur le système reproducteur femelle

Les esters de phtalate et leurs métabolites, en particulier les monoesters correspondants, agissent comme agonistes et/ou antagonistes en interagissant simultanément avec un ou plusieurs récepteurs hormonaux [113]. Cela créerait un réseau d'interconnexions

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

moléculaires, c'est-à-dire que la perturbation de l'un des maillons de ce réseau affecterait le bon fonctionnement de l'ensemble du système humain (Figure 10). Par exemple, l'augmentation des niveaux de testostérone et d'E₂ sériques induite par le DEHP chez les rats suggère l'existence de multiples liens croisés entre les récepteurs d'androgènes, d'œstrogènes et d'autres hormones stéroïdiennes ; de plus, la présence de récepteurs d'œstrogènes dans le système cardiovasculaire et les os implique des rôles non identifiés dans les tissus non reproductifs en contribuant à d'éventuels changements physiologiques [25].

Pour une interaction correcte avec les récepteurs, les phtalates ont besoin d'une certaine taille et d'un certain volume de la chaîne alkyle, plusieurs diesters de phtalates avec des chaînes alkyle en C₃ à C₆ ont présenté des activités contrastées comme des activités œstrogéniques médiées par *hERα* et des activités anti-œstrogéniques médiées par *hERβ* d'une manière dose-dépendante [114]. Dans un autre mécanisme, les phtalates complexés avec *PPAR* interagiraient avec les hormones folliculo-stimulantes, essentielles au développement pubertaire et à la fonction des ovaires féminins, en inhibant la production d'estradiol, c'est-à-dire en supprimant l'activité aromatasase dans les cellules de la granulosa par une diminution de la signalisation *AMP_c* [115]. L'effet combiné des phtalates joue un rôle crucial dans l'évaluation des risques pour l'homme, car il déclenche simultanément de multiples voies, y compris la synthèse et le métabolisme des *RE* et des hormones thyroïdiennes [25]. Cela montre que les phtalates peuvent modifier l'activité génomique et non génomique du système reproducteur féminin directement par des interactions avec les *RE*, ou indirectement en tant que régulateurs ou co-activateurs des facteurs de transcription comme les *PPAR* ou les récepteurs d'hydrocarbures aryliques (*AhR*), ou par une voie indépendante en modulant les enzymes métaboliques essentielles au métabolisme des *RE* [113] (Figure 10).

Il existe des preuves suggérant que le DEHP peut altérer les voies de signalisation des œstrogènes. L'exposition *in vitro* au DEHP produit une faible activité œstrogénique *via* le récepteur humain d'œstrogène *ERα*. Après de faibles doses d'exposition au DEHP, une régulation négative importante du récepteur de la progestérone (une cible d'œstrogène) et une régulation négative du *CYP17a1* (un gène important dans la synthèse des hormones stéroïdes) ont été observées chez les hommes et les femmes. Une diminution des taux sériques d'estradiol et de progestérone a été signalée chez des rats femelles et chez des rats males en culture cellules de la granulosa après exposition au DEHP et au MEHP [76, 82].

L'effet anti-œstrogène des phtalates se traduit par le blocage des hormones sexuelles [82].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

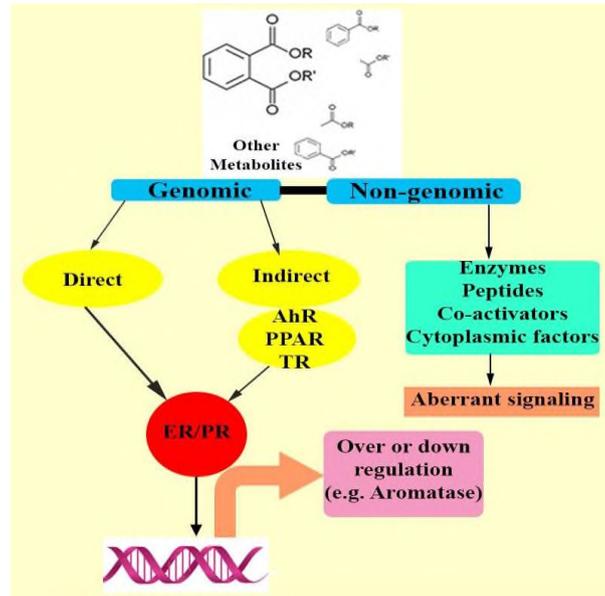


Figure 10. Mécanismes de signalisations moléculaires plausibles provoqués par les phtalates et leurs métabolites expliquant les dysfonctionnements dans le système reproducteur féminin [25].

II.7.4. Induction du cancer

Les données provenant d'études animales et *in vitro* éclairent le mécanisme d'induction du cancer par les phtalates, en particulier le carcinome hépatique et mammaire [82]. Les phtalates peuvent être transportés dans les cellules *via* le canal *MDR1* par la régulation transcriptionnelle du récepteur des stéroïdes et des xénobiotiques (*SXR*) [116]. La progression du cancer du sein humain peut se faire par l'activation de la voie de signalisation *PI3K/AKT* [117] ; ou par la voie de signalisation *AhR/HDAC6/c-myc* indépendante des œstrogènes, médiée par la cascade de signalisation *AMP-PKA-CREB1* (*MDA-MB-231*) [118]. Le *PPARα* est le médiateur du carcinome hépatique induit par les phtalates chez les rongeurs ; mais des études avec des souris *PPARα* nulles ont démontré que le carcinome hépatique est déclenché par le *protooncogène c-jun* par le biais du système *c-jun/c-fos/AP1* ; cependant, *PPAR* peut agir par la modulation épigénétique du promoteur du gène *c-myc* dans le carcinome hépatique [25]. Il est démontré que les phtalates causent des dommages à l'ADN dans les cellules épithéliales mammaires animales et humaines et, par conséquent, on leur attribue le potentiel de générer une instabilité génomique dans le tissu mammaire [119]. Il est démontré que les phtalates sont des agonistes efficaces des *PPAR* ; par le biais de sa signalisation moléculaire, le gène *BARC* aurait ainsi été activé [97].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

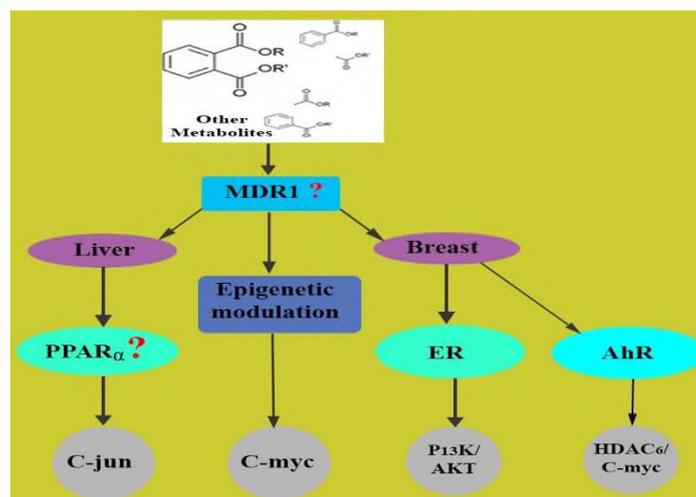


Figure 11. Mécanisme de signalisation moléculaire provoqué par les phtalates expliquent le développement de cancer [25].

Le récepteur des hydrocarbures aryliques (*AhR*) est un facteur de transcription activé par les hydrocarbures aromatiques halogénés, les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les composés endogènes. Les phtalates peuvent influencer *AhR* de manière dose-dépendante. Une fois activée, *AhR* se dissocie de la protéine de choc thermique *HSP 90* et se dimérise avec le translocateur nucléaire *AhR* (*Arnt*). L'hétérodimère *AhR/Arnt* se transloque dans le noyau et se lie à des éléments sensibles à l'*AhR* qui se trouvent en amont des gènes cibles et qui régulent l'expression génétique. Des données expérimentales suggèrent que l'*AhR* joue un rôle important dans la prolifération et la différenciation cellulaires ainsi que dans le développement des tumeurs et la tumorigénèse dans la glande mammaire [85].

D'autres études ont suggéré que les phtalates peuvent favoriser et induire la carcinogénèse dans divers types de cellules par un mécanisme médié par *AhR* ou d'autres mécanismes tels que l'apoptose induite par le MEHP par les voies médiées par les mitochondries et la *caspase*₃ [85, 120].

II.7.5. Diabète de type 2 (DT2)

Le diabète est une cause importante de cécité, d'insuffisance rénale, d'infarctus du myocarde, d'accidents vasculaires cérébraux et d'amputation des membres inférieurs. Entre 2000 et 2019, les taux de mortalité due au diabète selon l'âge ont augmenté de 3%. En 2019, le diabète et les maladies rénales dues au diabète ont entraîné environ 2,0 millions de décès [121].

Le DT2 chronique peut être causé par une combinaison complexe de nombreux facteurs génétiques, développementaux et environnementaux. Bien que la prédisposition génétique,

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

la contrainte imposée pendant les stades de développement *fœtal* ou post-natal, les choix de style de vie sont les raisons communément acceptées pour l'apparition et la progression du DT2. De nombreux contaminants environnementaux, dont les phtalates, y contribuent fortement [25].

Des études épidémiologiques rapportées aux États-Unis et en Suède [122-126] ont détecté différents phtalates et leurs métabolites dans les échantillons d'urine ou de sang des participants. Le DEHP et ses métabolites ont été trouvés comme marqueur commun dans toutes ces études. Les phtalates peuvent augmenter le risque de diabète par l'activation des *PPAR* [97, 127], qui sont les principaux régulateurs de l'homéostasie des lipides et du glucose, en nuisant au développement et à la progression des cellules *bêta* du pancréas [25].

II.7.6. Surpoids et obésité

Le surpoids et l'obésité induits par les phtalates peuvent être déclenchés par de multiples mécanismes évoqués par la perturbation de la signalisation moléculaire impliquée dans le métabolisme des lipides et son homéostasie. Cette signalisation nucléaire perturbée [128, 129] peut passer par l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadique/thyroïdien couplé à des facteurs de transcription nucléaires comme les *PPAR* [90, 97, 129], qui peuvent être résumés comme suit :

(a) canal phtalates-*PPAR* α -androgène ;

(b) canal phtalates-hormones thyroïdiennes ;

(c) phtalate-*PPAR* γ -adipogénèse ;

et (d) canal phénotype économe-modulation épigénétique (Figure 12) [25].

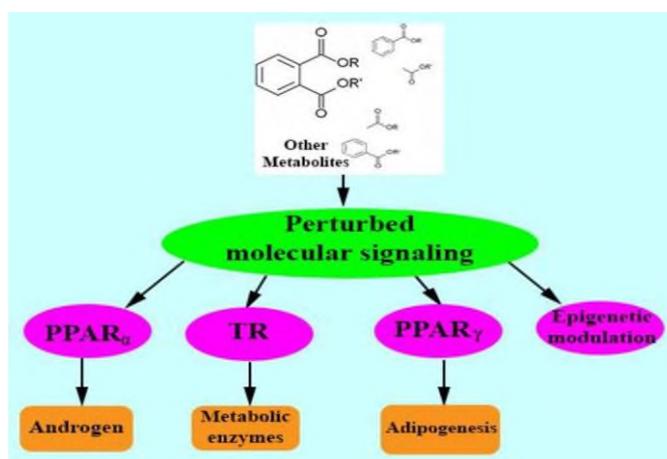


Figure 12. Mécanisme de perturbation de signalisation moléculaire plausible provoqué par les phtalates comme obésogène [25].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

II.7.7. Allergies et asthme

L'allergie et les maladies des voies respiratoires sont encore d'autres conséquences importantes des phtalates sur la santé. On s'attend à ce que les phtalates (en particulier sous forme de poussière et de vapeurs ou de gaz) agissent comme des allergènes en modulant négativement le système immunologique, ce qui entraîne une inflammation et de l'asthme [25].

De nombreuses études épidémiologiques et toxicologiques ont montré que la libération de phtalates par les matériaux PVC peut augmenter le risque d'asthme et d'allergies [85].

De multiples études montrent que les phtalates de PM élevé sont associés aux allergies et à l'asthme en provoquant un stress oxydatif et des altérations dans la sécrétion de diverses cytokines [130, 131].

Les phtalates de haut PM comme le DEHP ou leurs monoesters sont les principaux allergènes provoquant des réponses allergiques comme l'asthme, la respiration sifflante, le rhume des foins, les éruptions cutanées avec démangeaisons et l'eczéma chez les adultes [131]. L'exposition gestationnelle au DEHP s'est avérée être l'agent causal des réponses allergiques chez les nourrissons et les jeunes enfants [131] ; et cette exposition gestationnelle aux phtalates annonce les changements épigénétiques induits par les phtalates. Par exemple, on a constaté que le DEHP supprime l'expression de *l'interféron α/β* induite par le *CpG* dans les *DC* plasmacytoïdes, et interférait avec l'immunité contre les infections et modulaient les cellules *Th2* en altérant les réponses *IgE* et éosinophiles par le biais de cytokines [132]. Wang *et al.* (2015) ont montré que le taux de MEHP dans les urines était corrélé à l'hypométhylation de la région promotrice du *TNF α* , responsable de l'apparition de l'asthme chez les enfants [133]. Indépendamment de l'âge, les métabolites du DEHP ont été associés à une respiration sifflante, à des infections thoraciques et à des bronchites. L'exposition prénatale au DEHP et à ses métabolites a également été fortement associée au risque d'asthme à l'âge de 7 ans et plus [134]. Les réponses immunitaires montrent que le processus de sensibilisation allergique implique toutes les caractéristiques distinctives de l'asthme allergique, à savoir, les cellules dendritiques présentatrices d'antigènes, les cellules *Th2*, les mastocytes, les éosinophiles et la production *d'IgE* [85].

Quelques études menées sur l'inhalation d'aérosols ont montré que le DEHP est capable d'augmenter le taux sérique *d'IgG1*, mais pas *d'IgE*, et les niveaux de cellules inflammatoires, y compris les éosinophiles, les lymphocytes et les neutrophiles dans les poumons et le liquide de lavage broncho-alvéolaire, mais l'effet n'est observé qu'à concentrations très élevées. D'un autre côté l'exposition répétée au MEHP par inhalation a le même effet que pour le DEHP, mais à des doses plus faibles [85].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

II.7.8. Action sur l'axe hypothalamus-pituitaire-thyroïde

L'axe hypothalamus-pituitaire-thyroïde (*HPT*) régule le système endocrinien de la thyroïde et toutes les preuves indiquent que la thyroïde est vulnérable au DEHP qui perturbe le système endocrinien par ses effets sur la biosynthèse, le transport, la sécrétion et le métabolisme de la *TH*. L'hypothalamus sécrète l'hormone de libération de la thyrotropine (*TRH*), qui stimule l'hypophyse à sécréter la *TSH* et les *TH* régulent la sécrétion de *TSH* par une boucle de rétroaction négative chez les mammifères. La biosynthèse et la sécrétion des *TH* dépendent de l'absorption d'iode par les cellules folliculaires de la thyroïde. La *TSH* régule ces voies *kinases*, qui médient l'expression de gènes associés au développement de la glande thyroïde, y compris les actions de la protéine à boîte appariée 8 (*PAX-8*), du symporteur d'iodure de sodium (*NIS*), du facteur de transcription thyroïdien 1 (*TTF-1*), de la pendrine trans- porteuse d'iodure (*PDS*) et de la peroxydase thyroïdienne (*TPO*).

Dans les expériences sur les animaux, l'inclusion du DEHP comme contaminant dans l'alimentation des rats, a diminué la concentration plasmatique de tétraiodothyronine (*T4*) et de ses métabolites et a induit des changements histologiques dans la glande thyroïde. Des expériences de culture cellulaire ont révélé que les modifications de l'activité de la *TH* et de la captation de l'iodure par les cellules folliculaires de la thyroïde après exposition au DEHP peuvent être associées à son activité antagoniste. Des études épidémiologiques récentes ont indiqué qu'il existe une corrélation entre l'exposition au DEHP et les *TH*, dans lesquelles les niveaux de thyroxine libre (*FT4*) et de Triiodothyronine (*T3*) dans le sérum étaient négativement corrélés avec la concentration de DEHP. L'activation et l'inactivation de la *TH* sont médiées par la famille des enzymes déiodinases. Lorsque la *T3* et la *T4* entrent dans la cellule par le transporteur d'hormones thyroïdiennes, la concentration d'hormones thyroïdiennes est contrôlée par trois iodothyroxine déiodinases (déiodinases 1 (*D1*), déiodinases 2 (*D2*) et déiodinases 3 (*D3*)). *D1* et *D2* transforment la thyroxine *T4* en *T3* active, tandis que *D3* empêche l'activation de *T4* et met fin au fonctionnement de *T3*. Le DEHP perturbe la stabilité des *THs* et de l'axe *HPT* en altérant l'expression des gènes, les niveaux d'hormones et les activités enzymatiques.

Ces altérations peuvent être utilisées de manière fiable pour évaluer les effets des produits chimiques utilisés sur le système endocrinien de la thyroïde [135].

Le DEHP peut interférer avec l'axe *HPT* à différents niveaux et ainsi altérer la fonction thyroïdienne par de nombreux mécanismes potentiels, notamment en induisant des lésions oxydatives de la thyroïde, en perturbant l'homéostasie de la *TH*, en endommageant

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

les récepteurs hormonaux et en modifiant les mécanismes des protéines transporteuses et de l'absorption cellulaire [135].

II.8. EFFETS DES PHTALATES SUR LA SANTE DE L'ENFANT

De nombreux phtalates, même à faible concentration, sont des perturbateurs endocriniens (PE) connus qui ont une influence sur le développement des organismes et leur système reproducteur [21].

Les PE ont pour caractéristique commune de ne pas présenter une courbe dose-réponse typique, c'est-à-dire que l'augmentation de la concentration ne correspond pas à l'augmentation de leur effet, puisqu'ils présentent une courbe non monotone [136].

Il semble que les phtalates agissent principalement comme des sensibilisateurs hormonaux en perturbant ou en altérant les mécanismes physiologiques normaux, ce qui se traduit directement par des dysfonctionnements du système corporel, ce qui implique une forte association entre les PE et les maladies humaines (Figure 13) [21, 25, 89, 137, 138].

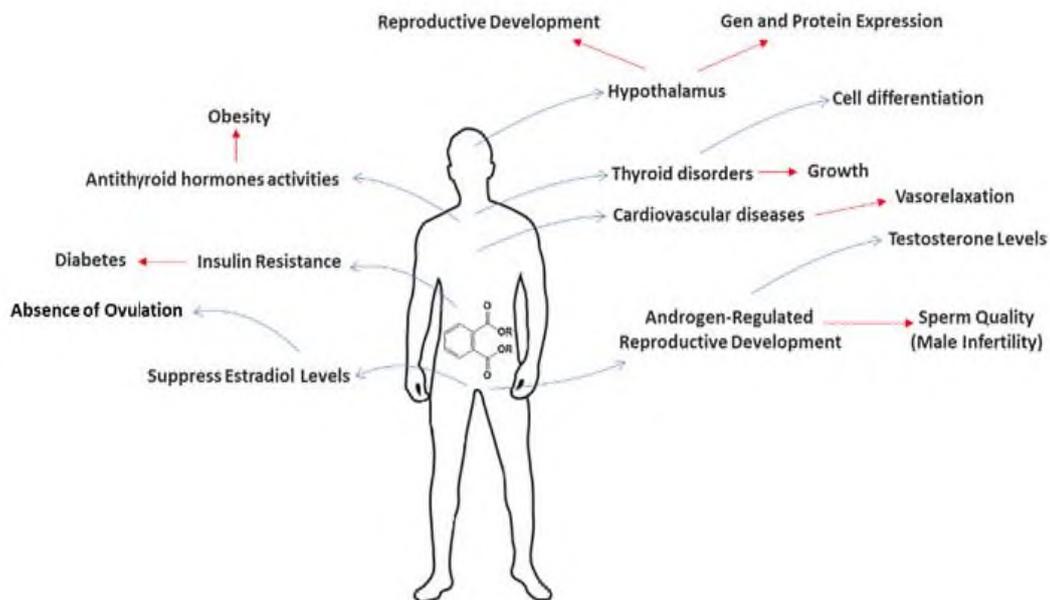


Figure 13. Principale action hormonale des phtalates [21].

Les effets sur la santé liés à l'exposition aux phtalates regroupent l'altération du système reproducteur, les effets neurologiques, l'incidence du cancer, l'obésité, le diabète, l'asthme, les allergies et les effets hépatotoxiques [17, 32].

Toutefois, la force de l'association est variable et la plupart des travaux sont axés sur l'altération de la reproduction masculine [17, 37].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

Deux phtalates, le DEHP et le DINP ont fait l'objet d'une attention particulière, en raison des préoccupations spécifiques liées aux expositions pédiatriques ; *via* les jouets en plastique qui représentent l'une des principales sources d'exposition des enfants aux phtalates, et de leur potentiel toxique en tant que PE [17, 23, 35].

Le DEHP et le DINP ont un effet anti-androgène [20]. Le DEHP a été classé reprotoxique et cancérigènes potentiels [2, 20, 22, 35, 38-40].

De plus en plus de preuves ont étudié l'association entre l'exposition aux phtalates et les facteurs de risque cardiovasculaire, c'est-à-dire l'obésité, le diabète de type 2 et l'hypertension.

Les phtalates sont également connus pour interférer avec la signalisation de l'insuline et pour augmenter le stress oxydatif. Tous ces mécanismes contribuent à l'apparition d'une résistance à l'insuline. Des preuves récentes soutiennent un rôle des phtalates et de leurs métabolites dans la pathogenèse de l'athérosclérose et de l'hypertension (Figure 14) [139].

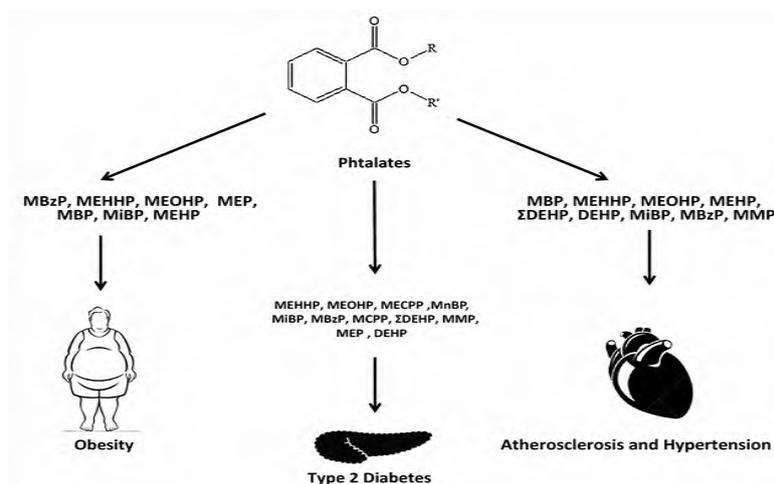


Figure 14. Métabolites du phtalate associés à l'obésité, au diabète de type 2, à l'athérosclérose et à l'hypertension [139].

Bien que la majeure partie des informations sur l'effet perturbateur endocrinien des phtalates provienne d'études non humaines, les preuves qui s'accumulent à partir des études cliniques au cours des deux dernières décennies annoncent que l'augmentation des anomalies sexuelles (telles que, l'inversion du sexe, l'endométriose, l'altération du développement reproductif, la puberté précoce et les problèmes de fertilité chez les hommes et les femmes), l'incidence de divers cancers, les allergies et l'asthme, le surpoids et l'obésité, la résistance à l'insuline et le diabète de type II, le trouble déficitaire de l'attention avec hyperactivité, la diminution du quotient intellectuel, l'altération du développement neurologique, les problèmes mentaux, psychomoteurs et comportementaux, les troubles du spectre autistique, *etc.*, sont les effets

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

néfastes des phtalates qui se manifestent directement chez l'homme en raison de l'altération des multiples communications intermoléculaires [25].

II.8.1. Diabète, résistance à l'insuline

La corrélation de l'incidence croissante de la résistance à l'insuline et de l'obésité chez les enfants avec l'exposition aux phtalates est une préoccupation sérieuse dans le monde entier [123, 140-145].

Trasnade et *al.* (2013) ont examiné les associations de métabolites urinaires de phtalates (de MEP, MBP et DEHP) dans des données analytiques transversales et ont constaté que le DEHP était significativement associé (21,6% de prévalence) à la résistance à l'insuline [123].

II.8.2. Surpoids et obésité

Le surpoids et l'obésité, principaux facteurs de risque, constituent un double marqueur pour un certain nombre de maladies chroniques, notamment le diabète, les maladies cardiovasculaires et le cancer [25].

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), en 2019, 38 millions d'enfants de moins de 5 ans étaient en surpoids ou obèses. En 2016, plus de 340 millions d'enfants et d'adolescents âgés de 5 à 19 ans étaient en surpoids ou obèses [146].

Le régime alimentaire est le principal facteur de l'épidémie d'obésité, mais les substances chimiques environnementales « obésogènes » comme les phtalates pourraient également jouer un rôle crucial dans les voies liées à l'obésité en modifiant la signalisation cellulaire impliquée dans l'homéostasie des lipides et la prise de masse corporelle [128].

Bien que quelques études aient examiné les effets des phtalates sur le développement de l'obésité chez l'homme, de nombreuses études *in vitro* et *in vivo* suggèrent que les phtalates ont des effets significatifs sur le développement de l'obésité et du surpoids. Entre autres raisons, l'exposition aux phtalates est de plus en plus reconnue comme un contributeur majeur (obésogène ou perturbateur métabolique) à l'obésité, qui est indépendant du régime alimentaire et de l'activité physique [147].

Sur la base d'études épidémiologiques, une association significative a été rapportée pour l'obésité avec un ou plusieurs phtalates [122, 143, 148].

Une association accrue avec les métabolites de phtalates a été trouvée avec les résultats de l'obésité dans la population américaine, ce qui a été signifié par des différences notables selon le sexe et les groupes d'âge [25].

Les métabolites de phtalates de faible PM ont été significativement associés à l'obésité chez les enfants et les adolescents de sexe masculin. Tandis que les métabolites de phtalates de PM

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

élevé ainsi que ceux du DEHP ont été significativement associés à l'obésité chez tous les adultes [143, 144]

Dans une étude chinoise, l'exposition aux phtalates a été trouvée associée à une augmentation de la masse corporelle et du tour de taille, l'indicateur direct de l'obésité [142].

Dans le contrôle de l'obésité infantile, l'âge et le sexe sont intimement associés à l'ampleur de l'exposition aux phtalates. En Chine, les niveaux urinaires de phtalates chez les garçons (11 à 13 ans) étaient 30% plus élevés que chez les filles du groupe d'âge correspondant, tandis que les niveaux de MEHP étaient plus élevés chez les garçons plus jeunes (< 10 ans) et plus âgés (> 10 ans), et que le MBP était associé à la déposition de graisse uniquement chez les garçons plus âgés [144].

L'effet obésogène des phtalates semble avoir un impact important chez les enfants et les adolescents. Dans une vaste étude transversale réalisée aux États-Unis, Trasande et *al.* (2013) ont clairement démontré que les phtalates de faible PM - en particulier les métabolites du DMP et du DEP - sont fortement associés au surpoids (prévalence de 21%) et à l'obésité (22%), et que l'acide phtalique (PA) dans l'urine et le MEP, le DBP et le PA dans le sérum étaient associés à l'obésité chez les filles coréennes [140, 149].

En outre, les taux plus rapides de métabolisme des phtalates chez les enfants et les adolescents que chez les mères et les adultes [150], associés au style d'alimentation - en particulier la culture de la restauration rapide des enfants et des adolescents [151], auraient un impact important sur leur état de santé [151].

L'obésité et le DT2 constituent une paire inséparable de syndrome de maladie liée au mode de vie, principalement associée à l'homéostasie du glucose [25]. Les individus résistants à l'insuline sont confrontés à de multiples perturbations du métabolisme des acides gras libres, qui conduiraient à l'accumulation de graisses dans les tissus et cellules cibles de l'insuline (foie, tissu adipeux, muscles squelettiques et cellules endothéliales) ; et cette lipotoxicité peut conduire à la dysfonction mitochondriale acquise [90].

Bullon et *al.* (2014) ont attribué ce dysfonctionnement mitochondrial et ce stress oxydatif à une pathologie commune à l'obésité, au diabète, à l'athérosclérose et à la parodontite chronique [152].

Une cohorte prospective de plus de 1000 filles aux États-Unis a révélé qu'une exposition accrue au DEP à l'âge de 6 à 8 ans était associée à un risque accru d'obésité et une augmentation de l'IMC et du tour de taille à l'âge de 7 à 13 ans (Braun, J.M. et *al.*, 2016) [153].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

II.8.3. Allergies et asthme

Des épisodes fréquents d'exposition aux phtalates conduiraient à une inflammation chronique incurable et à l'asthme avec des symptômes associés graves. Bien que l'on sache très peu sur l'association entre les phtalates et l'asthme, quelques études réalisées chez des enfants en Europe montrent un lien clair entre les deux [154, 155].

Beko et *al.* (2013) ont examiné le lien entre DEP, DnBP, DiBP, BBzP, DEHP et leurs métabolites en tant qu'allergènes dans l'induction de l'asthme chez des enfants danois (N = 200, 3 à 6 ans). Ils ont analysé les échantillons d'urine, et la poussière dans les maisons et les garderies, en plus de l'examen personnel pour établir le lien entre les phtalates et l'asthme. D'après l'analyse d'urine, le DEHP et ses métabolites ont montré la DJT la plus élevée (4,42µg/kg pc/jour), tandis que le BBzP a montré la plus faible exposition [154].

D'autre part, Bertelson et *al.* (2013) ont démontré que des phtalates de PM plus élevés et leurs métabolites (DINP, DIDP, MCOP, MCNP) étaient associés à l'asthme chez les enfants Norvégiens [155].

II.8.4. Troubles du spectre autistique (TSA) et comportement cognitif

Les troubles du spectre autistique (TSA) sont un groupe de troubles neurologiques complexes, constamment croissant et réfractaire aux traitements médicamenteux. L'étiologie est inconnue, mais on pense qu'elle résulte d'une perturbation des mécanismes neurobiologiques normaux [85]. L'exposition aux phtalates peut avoir des effets négatifs sur le développement neurologique et cognitif des enfants [145, 156].

Afin d'évaluer la relation entre les phtalates et les TSA, une étude a été menée pour évaluer les concentrations de métabolites primaires et secondaires du DEHP chez 48 enfants atteints de TSA. Une méthode de diagnostic, basée sur la détermination des concentrations urinaires des métabolites du DEHP (MEHP, 6-OH-MEHP, 5-OH-MEHP et 5-oxo-MEHP) a été appliquée aux échantillons d'urine. Chez les patients atteints de TSA, on a détecté une augmentation significative du 5-OH-MEHP et du 5-oxo-MEHP par rapport au groupe témoin. Le 5-oxo-MEHP a montré une spécificité de 91% dans l'identification des patients atteints de TSA [157]. Dans une étude longitudinale (Taïwan), 430 femmes enceintes au troisième trimestre ont participé à l'étude, et leurs 110, 79, 76 et 73 enfants ont été suivis, c'est-à-dire que le turn out cumulé a eu lieu à l'âge de 2, 5, 8 et 11 ans, respectivement [145]. Ils ont comparé les concentrations urinaires de phtalates en relation avec les scores de *Bayley* et de *QI* pour évaluer les fonctions neurocognitives et l'intelligence, et ont constaté que les métabolites de DEHP de l'exposition postnatale étaient fortement associés à une faible fonction cognitive.

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

Ces résultats démontrent une relation entre l'exposition aux phtalates et les TSA, suggérant un rôle clé pour ces contaminants environnementaux dans la pathogenèse de l'autisme probablement en raison d'une action neurotoxique potentielle de ces substances [82].

II.8.5. Neurodéveloppement et trouble de déficit de l'attention avec hyperactivité (TDAH)

Si l'on considère que les jeunes enfants peuvent être particulièrement vulnérables aux effets néfastes produits par l'exposition aux phtalates, il est d'une importance cruciale de déterminer si les jeunes enfants qui traversent des périodes neurodéveloppementales sensibles peuvent présenter un risque accru de déficits à long terme par rapport à la population générale. Étant donné que ces périodes sensibles du développement sont caractérisées par une augmentation spectaculaire des processus de croissance du cerveau, tels que le nombre élevé de cellules, la myélinisation, la migration cellulaire, la croissance dendritique et axonale et la formation de connexions neuronales, l'exposition aux phtalates pendant cette période pourrait potentiellement retarder ces processus de croissance et avoir un impact négatif grave sur le fonctionnement cognitif et la santé mentale tout au long de la vie [76].

Seules quelques très rares études ont examiné l'association entre le trouble de déficit de l'attention avec hyperactivité (TDAH) et l'exposition aux phtalates. Une étude pionnière à cet égard réalisée chez des enfants coréens a montré que le DBP était fortement associé au TDAH [158] ; tandis que d'autres métabolites du DEHP n'avaient aucun impact sur le TDAH. À l'aide des données transversales de l'enquête nationale sur la santé et la nutrition (NHANES, 2001-2004), Chopra et *al.* (2014) ont réalisé une étude détaillée sur l'association entre les phtalates (DEHP et ses métabolites) et le trouble déficitaire de l'attention (TDA), et les difficultés d'apprentissage (TA) chez les enfants américains ayant déclaré un TDA ou un TA, ou ces deux conditions ensemble. Cette étude a confirmé une forte association entre le DEHP et les troubles de l'attention, ou les deux, chez les filles plutôt que chez les garçons dans certains modèles [159].

Dans une étude antérieure comprenant 460 paires mère-bébé coréennes, Kim et *al.* (2011) ont suggéré que l'exposition prénatale aux phtalates *in utero* (DEHP et DBP) aurait un impact sur les indices de développement mental et psychomoteur des nourrissons, en particulier des garçons à l'âge de 6 mois [160].

II.8.6. Atteinte du système cardio-vasculaire

Selon l'OMS, les maladies cardiovasculaires (MCV) sont la principale cause de décès dans le monde. Le mode de vie et les habitudes d'aujourd'hui, notamment le tabagisme, la sédentarité et les mauvaises habitudes alimentaires, ainsi que le diabète et l'obésité, sont considérés comme les principaux facteurs de risque de ces maladies. Cependant, l'influence des contaminants

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

environnementaux sur la santé humaine a également été proposée comme cause des MCV, plusieurs études suggérant un lien entre l'exposition aux phtalates et les MCV [136].

Une association positive a été démontrée entre les phtalates et le développement de l'hypertension [161] et de l'athérosclérose [136, 162] chez les adultes et certains facteurs de risque cardiométaboliques chez les enfants et les adolescents [136].

La prévention et le contrôle de l'hypertension ont été considérés comme un problème de santé qui ne touche que les adultes ; cependant, des études récentes ont montré que les enfants souffrant d'hypertension artérielle sont plus susceptibles de devenir des adultes hypertendus [71]. Ainsi, en se concentrant sur les enfants, une étude transversale réalisée en 2015 a analysé l'association entre les phtalates urinaires et la tension artérielle, les triglycérides et les lipoprotéines de 1619 enfants et adolescents américains. Dans cette étude, le DEHP, le DINP et le DIDP ont été mesurés, et les résultats ont montré qu'il existe une association significative entre les métabolites DINP et DIDP et une tension artérielle systolique plus élevée, sans qu'aucune association n'ait été détectée pour les triglycérides et les HDL [163].

Sachant que dans ces situations, les enfants et les nourrissons peuvent être exposés à des niveaux élevés de DEHP et que les preuves du lien entre les phtalates et la tension artérielle chez les enfants sont de plus en plus nombreuses, Jenkins et *al.* ont décidé d'explorer cette question. Les échantillons d'urine d'une vingtaine de nourrissons ont été analysés pour déterminer l'exposition au DEHP, et les nourrissons souffrant d'hypertension idiopathique ont été comparés à des nourrissons normotendus. À partir de l'évaluation du matériel hospitalier (poches de liquide intraveineux et tubes liés à la respiration) pour la présence de DEHP, les auteurs ont conclu que l'exposition au DEHP est plus importante chez les nourrissons hypertendus et que l'exposition intraveineuse est prédictive de la tension systolique [164].

Su et *al.* ont évalué la relation entre l'exposition aux phtalates et l'athérosclérose chez des populations jeunes. Les données obtenues montrent que le DEHP et le DBP ont une corrélation significative avec l'épaisseur de l'intima-média de la carotide, un indicateur du développement de l'athérosclérose [165].

Une relation étroite entre le DEHP et la pression artérielle a été constatée dans un sous-échantillon d'enfants américains âgés de 6 à 19 ans ayant participé à la National Health and Nutrition Examination Survey entre 2003 et 2008. Pour chaque unité logarithmique d'augmentation des métabolites du DEHP, une augmentation de 0,041 unité *SD* du *z-score* de la pression artérielle systolique a été identifiée [139, 166]. Ils ont également démontré l'association du DEHP à une pression artérielle systolique plus élevée chez les enfants et adolescents américains [166].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

II.8.7. Cancer

Contrairement au diabète et à la résistance à l'insuline, à l'obésité et à la dysgénésie testiculaire, on ne trouve pas beaucoup de preuves cliniques dans la littérature pour impliquer le lien entre les phtalates et l'incidence du cancer chez l'homme [25].

Néanmoins, on pense de plus en plus qu'il existe un lien entre le cancer chez l'homme (en particulier les cancers de la peau, du foie et les cancers gastro-intestinaux dans la population générale, le cancer du sein chez les femmes) et les PE comme les phtalates, en raison de leurs propriétés xénoestrogéniques [96].

La présence de phtalates joue un rôle important dans la prolifération de différentes cellules souches cancéreuses en interférant avec les processus de signalisation associés [21].

La littérature scientifique indique un lien possible entre les concentrations urinaires de phtalates et le cancer du sein [167]. Dans une étude mexicaine, des métabolites de phtalates ont été détectés chez 82% des femmes atteintes d'un cancer du sein, et que la concentration de MEP était significativement plus élevée que celle de l'échantillon témoin [167].

Une enquête épidémiologique au Mexique a signalé une corrélation positive entre les concentrations urinaires de DEHP et le risque de développer un cancer du sein [85].

Les phtalates peuvent être responsables de cancers chez l'homme. Le DEHP administré par voie orale provoque des adénomes et/ou des carcinomes hépatocellulaires chez les souris et les rats des deux sexes. Plusieurs études ont suggéré que l'exposition alimentaire au DEHP provoque des tumeurs du foie et du pancréas chez les rats. Le mécanisme de transformation néoplasique hépatique est lié à l'activation de $PPAR_{\alpha}$, bien que le DEHP soit également capable de provoquer un cancer du foie chez les souris dépourvues de $PPAR_{\alpha}$, ce qui suggère que l'activation de $PPAR_{\alpha}$ n'est pas essentielle. En se basant sur l'hypothèse que les humains sont moins sensibles que les rongeurs à l'activation de $PPAR_{\alpha}$, plusieurs revues ont conclu que l'hépatocarcinogénèse chez les rongeurs causée par les agonistes de $PPAR_{\alpha}$ est spécifique à l'espèce et moins pertinente pour les humains [85].

Des modifications hormonales se manifestant à des moments sensibles du développement testiculaire pourraient favoriser la formation de tumeur à ce niveau. Ainsi, des facteurs hormonaux agissant soit pendant la vie *fœtale*, soit au moment de la puberté pourrait favoriser la survenue de cancer testiculaire [79].

Le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) a conclu que le DEHP ne peut pas être classé comme cancérogène pour l'homme, parce que le DEHP induit des tumeurs du foie chez les rongeurs par un mécanisme activant le $PPAR_{\alpha}$ qui n'est pas pertinent chez l'homme. Cependant, comme il n'y avait pas de données disponibles sur la cancérogénicité du DEHP

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

chez l'homme, mais qu'il existe des preuves suffisantes de la cancérogénicité du DEHP chez les animaux de laboratoire, il a été classé comme cancérogène probable pour l'homme (Groupe 2B) [168].

II.8.8. Effets sur le système reproducteur mâle et femelle

De nombreuses études sur la reprotoxicité menées sur des rats ont montré qu'une administration répétée de phtalates pouvait avoir des effets sur le système reproducteur mâle (baisse de la fertilité, atrophies testiculaires, poids *fœtaux* réduits, mortalité *fœtale*, malformations, *etc.*). Cependant d'autres études ont été faites afin de connaître ses effets sur les humains [79].

D'après des études de fertilité chez la souris, le DEHP est le plus puissant toxique pour la reproduction parmi les phtalates, suivi du DHP, du DPP et du DBP. Les phtalates à chaînes latérales très courtes (diéthyle) ou très longues (dioctyle) peuvent ne pas être toxiques pour le système reproducteur [85]

La vie prénatale semble être critique pour l'exposition au DEHP. La toxicité reproductive de l'exposition gestationnelle au DEHP est attribuable à l'action de son métabolite primaire, le MEHP, qui traverse la barrière placentaire et passe dans le lait maternel [169]. Une toxicité similaire à celle observée chez les rongeurs peut se produire chez l'homme et rester silencieuse pendant des années sans manifestation jusqu'à l'âge adulte [85].

L'impact du DEHP a été constaté dans la réduction de l'âge gestationnel des *fœtus* [169], parce que les phtalates chez la mère peuvent facilement traverser la barrière placentaire, ce qui a un impact sur le *fœtus* en développement *in utero* [170, 171]. Les nouveau-nés nés dans un tel environnement seraient en outre exposés à une charge supplémentaire d'exposition aux phtalates reçue par le lait maternel ou les aliments et l'environnement environnant [171].

a. Action sur le système reproducteur mâle

Plusieurs études ont indiqué que des changements dans les paramètres de la reproduction masculine, tels que les dommages à l'ADN des spermatozoïdes, la diminution des niveaux d'hormones de reproduction et la distance ano-génitale pourraient être liés à l'exposition environnementale aux phtalates [168].

Le « syndrome des phtalates » ou « syndrome de dysgénésie testiculaire » est l'un des principaux attributs négatifs de la toxicité des phtalates, caractérisé par la cryptorchidie, l'hypospadias, des testicules non descendus, une distance anogénitale réduite, une diminution du nombre de spermatozoïdes ou de leur qualité, une augmentation de la stérilité et un cancer des testicules [111, 147]. La distance anogénitale est considérée comme l'un des principaux marqueurs pour évaluer l'impact des phtalates chez les mâles humains [84, 111, 172, 173], qui est contrôlée par

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

la dihydrotestostérone. La distance anogénitale est le marqueur le plus sensible pour juger de l'action anti-androgène dans les études toxicologiques [84].

Il est démontré que cette anomalie est influencée par l'exposition prénatale des *fœtus* à divers phtalates pendant leur vie *intra utérine*. Dans leur étude pionnière, Swan et *al.* (2005) ont analysé l'indice anogénital chez 134 garçons (âgés de 2 à 36 mois), qui s'est avéré significativement corrélé au volume du pénis et à la proportion de garçons présentant une descente testiculaire incomplète. Sur les neuf monoesters de phtalate testés dans l'urine prénatale, les concentrations de MEP, MBP, MBzP et MiBP se sont avérées inversement proportionnelles à la distance anogénitale réduite, le MEP présentant la concentration la plus élevée, tandis que le DEHP n'a montré aucune corrélation avec la distance anogénitale [84].

Dans une étude plus détaillée, Marsee et *al.* (2006) ont également montré le lien des concentrations de phtalates (DEP, DBP, BBzP et DEHP) avec la toxicité masculine [172].

Dans une autre étude, l'exposition *in utero* au DBP s'est avérée critique dans l'induction d'effets anti-androgènes sur le *fœtus* [174] ; tandis qu'une étude menée parmi la population japonaise a montré le lien du DEHP avec la toxicité *fœtale* masculine [173].

Joensen et *al.* (2012) [175] ont également analysé l'urine et le liquide amniotique pour la présence de phtalates, et ont trouvé du MBP, MEHP et MEP dans l'urine et dans le liquide amniotique, et ont conclu que la production de testostérone et la rétroaction hypophysaire-hypothalamique pourraient avoir été compromises chez les individus excréant une proportion plus élevée de métabolites primaires [25].

L'effet anti-androgène du DEHP et de ses métabolites dû à une exposition prénatale ne peut être exclu [176], car l'effet néfaste du MEHP sur la lignée des cellules germinales a été démontré par la culture d'organes, c'est-à-dire la culture de testicules humains *in vitro* [25].

La stérilité masculine est directement corrélée à la qualité du sperme (nombre, morphologie et motilité des spermatozoïdes). Quelques études menées aux États-Unis sur des hommes mariés subfertiles ont montré que le MBP et le MBzP étaient fortement associés à la spermatotoxicité [177, 178].

Quelques études ont tenté d'établir un lien entre l'impact des phtalates et la gynécomastie pubertaire - un signe clinique d'un déséquilibre œstrogène-œstrogène chez les garçons au moment du développement des caractéristiques sexuelles secondaires. La première étude ciblée à cet égard provient de Turquie ; Durmaz et *al.* (2010) ont examiné les niveaux plasmatiques de DEHP et MEHP chez 40 garçons atteints de gynécomastie pubertaire [179]. Bien que la concentration de DEHP et de MEHP se soit avérée significativement plus élevée

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

que chez les sujets témoins, ils n'ont pas pu étayer le lien entre le DEHP ou le MEHP et la gynécomastie [25].

Les androgènes, tels que la testostérone, sont essentiels à la masculinisation du cerveau. Les propriétés anti-androgènes du DEHP peuvent être liées à la perturbation de la fonction des cellules de *Sertoli* et des cellules de *Leydig* pendant les périodes de développement sensibles [76].

Les cellules de *Leydig* sont essentielles à la synthèse de la testostérone alors que les cellules de *Sertoli* jouent un rôle essentiel dans la masculinisation cérébrale et la déféminisation en convertissant la testostérone en œstradiol *via* l'enzyme aromatasase. Une réduction du nombre ou du fonctionnement des cellules de *Leydig* et des cellules de *Sertoli* peut entraîner une altération des niveaux de la testostérone et de l'œstradiol, ce qui peut avoir des conséquences critiques pour la masculinisation du cerveau [82].

Un certain nombre d'études ont signalé une diminution de la testostérone sérique chez les animaux après une exposition au DEHP [76, 180].

Chez l'être humain, trois études fournissent des preuves de l'implication des phtalates dans la modification de la production *fœtale* des hormones sexuelles (y compris la testostérone, l'œstradiol et la progestérone) et *IGF-3* pendant la grossesse. Deux études de cohorte ont montré que l'exposition *in utero* au DEHP était associée à une diminution des taux d'hormones sexuelles (testostérone libre et/ou le rapport testostérone/œstradiol libre). Les métabolites MEHP, MEHHP et MEOHP ont été trouvés dans le sang de cordon des nouveau-nés chez les filles [170] et le MEHP chez les garçons [181]. Araki et *al.* rapportent également une diminution de l'inhibine B, un marqueur de la fonction de *Sertoli*, et de la progestérone [181].

Une étude menée par une équipe de chercheurs de l'INSERM a en effet démontré expérimentalement que les phtalates étaient nocifs pour la mise en place du potentiel reproducteur masculin dans l'espèce humaine. Les chercheurs ont réussi à reproduire dans une boîte de culture le développement du testicule observé *in vitro*. Dans ce système, l'ajout de MEHP, provoque au bout de 3 jours la disparition de 40% des cellules germinales *fœtales*. Ces cellules sont les précurseurs des spermatozoïdes [182].

b. Effets sur le système reproducteur femelle

La présence de phtalates a été associée à un faible âge gestationnel du *fœtus* [169], à une apparition retardée de la puberté chez les filles [183], à l'endométriose [184], une augmentation des pertes cliniques de grossesse et de naissance [185], un faible rendement d'ovocytes [185], et une association avec l'infertilité [186].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

Frederiksen et *al.* (2012) ont testé l'impact des métabolites de MEP, MBP, DEHP et DINP dans l'urine en fonction de l'âge, du développement pubertaire et des niveaux d'hormones reproductives (hormone lutéinisante, œstradiol et testostérone), et ont constaté que les jeunes filles les moins avancées dans leur développement pubertaire présentaient la concentration urinaire la plus élevée au premier matin des métabolites de MBP, MBzP, DEHP et DINP [183]. Dans le même ordre d'idées, Upson et *al.* (2013) ont remarqué un risque accru d'endométriose avec des concentrations urinaires plus élevées de MBzP et de MEP, mais pas avec les métabolites du DEHP chez les femmes américaines, et ils ont observé un fort impact du MEHP dans l'endométriose [184].

Une étude menée auprès de 1100 petites filles, a montré que les phtalates seraient responsables de puberté précoce [167].

Certains phtalates font l'objet d'un classement comme substance à risque reprotoxique (effets néfastes sur la fonction sexuelle et la fertilité ; effets néfastes sur le développement des descendants). Il s'agit du DEHP, BBP, DIPP, DIBP, DMEP, DnPP et DBP qui sont classés Repro2 selon la directive 67/548/CEE (avéré pour l'animal et suspecté pour l'homme) et Repro1B (substances présumées toxiques pour la reproduction humaine) selon le règlement CLP 1272/2008 [79, 187]. Le DINP n'est pas classé reprotoxique [20].

Les tableaux ci-dessous résument les principales études sur les effets toxiques des phtalates sur la santé de l'enfant.

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

Tableau 7a. Principales études sur les effets toxiques des phtalates sur la santé de l'enfant.

Impact	Sujets / Pays	Phtalates/ métabolites	Matrice	Résultats	Référence
Développement neurologique, TDAH	n = 261 enfants (8-11 ans) ; Corée	DEHP, DBP et leurs métabolites	Urines	Cette étude révèle des relations significatives entre les concentrations urinaires des métabolites du DBP et le nombre d'erreurs d'omission et de commission dans les tests de performance continue (CPT) et la présence des symptômes du trouble de déficit de l'attention/hyperactivité (TDAH) chez les enfants d'âge scolaire.	Kim et <i>al.</i> , 2009 [158].
Développement neurologique, TDAH	n= 460 paires mère-enfant ; Corée	DEHP, DBP et leurs métabolites	Urines	Les métabolites urinaires ont eu un impact sur les indices de développement mental et psychomoteur des nourrissons, en particulier des garçons (6 mois).	Kim et <i>al.</i> , 2011 [160].
Obésité	n = 387 enfants (6-8 ans) ; USA	MECPP, MEHHP, MEOHP, MEHP, MBZP, DEHP, MEHP, MEHHP, MEOHP, MECPP	Urines	Relations positives entre les phtalates à faible PM et la taille corporelle chez les enfants en surpoids.	Teitelbaum et <i>al.</i> , 2012 [141].
Trouble du spectre autistique (TSA)	n = 48 enfants avec TSA (12 ans) ; Italie	DEHP et ses métabolites	Urines	Lien significatif entre les métabolites du DEHP et les TSA, en particulier le 5-oxo-MEHP a montré une spécificité de 91,1% dans l'identification des patients atteints de TSA.	Testa et <i>al.</i> , 2012 [157].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

Tableau 7b. Principales études sur les effets toxiques des phtalates sur la santé de l'enfant.

Impact	Sujets / Pays	Phtalates/ métabolites	Matrice	Résultats	Référence
Asthme et Allergie	n = 200 enfants asthmatiques (3-6 ans) ; Danemark	DEP, DNBP, DIBP, BBZP et DEHP	Urines, poussière	Le DEHP présentait la DJT la plus élevée (4,42µg/kg pc/jour) et le BBZP la plus faible (0,49µg/kg pc/jour) ; les expositions au DEP, au DNBP et au DIBP dans l'air et la poussière de l'environnement intérieur représentaient environ 100%, 15% et 50% de la DJT.	Beko et al., 2013 [154].
Asthme	n = 623 enfants (10 ans) ; Norvège	Métabolites de DINP, DIDP, DEHP, MEP, MNB et MIBP	Urines	Asthme associé aux métabolites du DINP et du DIDP.	Bertelson et al., 2013 [155].
Résistance à l'insuline	n = 766 à jeun (12-19-ans) ; USA	MEP, MBP, DEHP et leurs métabolites	Urines, sang	Métabolites de DEHP associés à une résistance accrue à l'insuline (prévalence de 21,6%).	Trasande et al., 2013 [123].
Tension artérielle	n = 2838 (6-19 ans) ; USA	MEP, MBP DEHP et leurs métabolites	Urines	Métabolites de DEHP associés à une tension systolique plus élevée.	Trasande et al., 2013 [166].
Obésité infantile	n = 2884 (6-19 ans) ; USA	Métabolites : MMP, MEP, MEPP, 5HO-MEHP, MEHP, MIBP, MNBP, MBZP	Urines	Métabolites à faible PM associés au surpoids et à l'obésité (21% et 22%, respectivement).	Trasande et al., 2013 [140].
Impact sur l'âge et le sexe	Enfants (6-19 ans) et adultes (20 ans et plus) ; USA	Métabolites : MNBP, MEP, MIBP, MECPP, MEHHP, MEOHP, MBZP, MCNP, MCOP	Urines	Les phtalates à faible PM associés à l'obésité chez les hommes ; PM élevé associés à l'obésité chez les adultes ; métabolites DEHP associés à l'obésité chez toutes les femmes adultes ; métabolites DEHP et haut PM associés à l'obésité chez les hommes de plus de 60 ans.	Buser et al., 2014 [143].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

Tableau 7c. Principales études sur les effets toxiques des phtalates sur la santé de l'enfant.

Impact	Sujets / Pays	Phtalates/ métabolites	Matrice	Résultats	Référence
Obésité	n = 4369 (6-80 ans) ; USA	MEP, MEHP, MBP, MBZP, MEHHP et MEOHP	Urines	Associations accrues avec les métabolites de phtalates et l'obésité ; avec des différences dans les sous-groupes de sexe et/ou d'âge.	Hatch et <i>al.</i> , 2008 [188].
Obésité chez les filles	n = 69 filles obèses (6 -14 ans) ; Corée	MEP, DBP, MBP, DEHP, MEHP, PA et MBZP	Urines, sang	PA dans l'urine et MEP, DBP et PA dans le sérum associés à l'obésité chez les filles.	Choi et <i>al.</i> , 2014 [149].
Développement neurologique	n = 1493 enfants (6-15 ans) ; USA	DEHP, DBP et métabolites .	Urines	Les métabolites urinaires de DEHP ont un impact sur les troubles de l'attention, et à la fois sur les troubles de l'attention et de l'apprentissage chez les filles que chez les garçons.	Chopra et <i>al.</i> , 2014 [159].
Obésité chez les garçons	n = 493 enfants d'âge scolaire (247 garçons, 246 filles) ; Chine	Métabolites de DEHP et MBP	Urines	Concentration chez les garçons de 11-13 ans plus élevés que chez les filles ; MEHP plus élevé chez les jeunes garçons (<10 ans) que chez les garçons plus âgés (>10 ans). Le MBP est associé à la répartition des graisses chez les garçons âgés de plus de 10 ans.	Zhang et <i>al.</i> , 2014 [144].
Diminution des fonctions cognitives	n = 430 femmes enceintes (enfants suivis de 2 à 12 ans) ; Taïwan	MMP, MEP, MBP, MBZP, MEHP, 5- OXO MEHP, 5-OH-MEHP	Urines	Diminution des fonctions neurocognitives et de l'intelligence en cas d'exposition postnatale. Les métabolites du DEHP ont montré une forte association.	Huang et <i>al.</i> , 2015[145].
Résistance à l'insuline (DT2)	n = 356 sujets (12-19 ans) ; USA	Métabolites de DINP, DIDP, DEHP	Urine, sang	Le DINP et le DEHP étaient associés au DT2 (prévalence de 34,4% et de 37,7% respectivement).	Attina et <i>al.</i> , 2015 [126].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

Tableau 7d. Principales études sur les effets toxiques des phtalates sur la santé de l'enfant.

Impact	Sujets / Pays	Phtalates/métabolites	Matrice	Résultats	Référence
Réduction de la distance anogénitale	n = 134 garçons (2-36 mois) ; USA	MEP, MBP, MBZP MIBP	Urines	Le MEP a montré la concentration la plus élevée (13,7µg/mL) et le DEHP n'a pas eu de corrélation avec la distance anogénitale.	Swan et <i>al.</i> , 2005 [84].
Santé reproductive	n = 881 sujets ; Danemark	Métabolites du DEHP et du DINP	Urine, sang et sperme	La production de testostérone et la rétroaction hypophyso-hypophysaire pourraient avoir été compromises.	Joensen et <i>al.</i> , 2012 [175].
Gynécomastie	n = 555 garçons (6-19 ans) ; Danemark	12 métabolites de phtalates (MEP, MNBP, MIBP, MBZP, MEHP, MEHHP, MEOHP, MECPP, MINP, MHINP, MIONP et MCIOP)	Urines, sang	Pas d'effets anti-androgéniques des phtalates chez les garçons en bonne santé.	Mieritz et <i>al.</i> , 2012 [189].
Exposition prénatale	n = 344 femmes enceintes ; Japon	MMP, MEP, MNBP, MBZP, MEHP, MEHHP, MEOHP	Urines	L'exposition prénatale au DEHP affecte le développement de la reproduction chez les enfants du sexe masculin.	Suzuki et <i>al.</i> , 2012 [173].
Puberté retardée chez les filles	n = 725 filles (5-19 ans) ; Danemark	MEP, DBP, DBZP, DEHP, DINP	Urines, sang	L'âge de la puberté augmentait avec l'augmentation des métabolites de phtalates.	Frederiksen et <i>al.</i> , 2012 [183].

CHAPITRE II. TOXICOLOGIE DES PHTALATES

Tableau 7e. Principales études sur les effets toxiques des phtalates sur la santé de l'enfant.

Impact	Sujets / Pays	Phtalates/ métabolites	Matrice	Résultats	Référence
Capacités motrices à l'âge de 11 ans	n = 727 mères, nouveau-nés et enfants ; Columbia	DNBP, BBZP, DIBP, DEHP et DEP	Urines	L'exposition aux phtalates pendant l'enfance pourrait avoir des effets néfastes sur la fonction motrice des garçons.	Arin A et <i>al.</i> , 2019 [190].
Effets anti-androgènes	n = 250 Enfants (7 ans) ; Pologne	21 métabolites de 11 phtalates	Urines	Les calculs de l'apport journalier (AJ) et de l'indice de danger ont révélé qu'un faible pourcentage d'enfants (environ 3 à 10%) dépassait la DJT établis par des institutions internationales telles que l'EFSA et l'EPA des États-Unis, ce qui indique que ces enfants pourraient être exposés à des effets anti-androgènes en raison de l'exposition individuelle et cumulée aux phtalates.	Gari, M et <i>al.</i> , 2019 [191].
Perturbation de la fonction thyroïdienne	n = 229 enfants d'âge préscolaire (3 ans) ; Corée	Métabolites urinaires de phtalates	Urines	Les données montrent des associations inverses et spécifiques au sexe entre des métabolites spécifiques de phtalates mesurés chez les enfants à l'âge de 3 ans et la fonction thyroïdienne. Chez les filles, les concentrations des métabolites non DEHP évalués étaient inversement associées à la FT ₄ . L'exposition aux phtalates en début de vie peut influencer la fonction thyroïdienne chez les enfants.	Kim, K.N.K. et <i>al.</i> , 2020 [192].
Obésité infantile et neuro-développement	n = 1000 filles ; USA	DEP	Urines, sang	Une exposition accrue au DEP à l'âge de 6 à 8 ans était associée à un risque accru d'obésité. Une augmentation de l'IMC et du tour de taille à l'âge de 7 à 13 ans a été observée.	Braun, J.M. et <i>al.</i> , 2017 [153].



CHAPITRE III
REGLEMENTATION
DES PHTALATES
DANS LES JOUETS

CHAPITRE III. REGLEMENTATION DES PHTALATES DANS LES JOUETS

Les phtalates sont considérés comme l'une des substances chimiques perturbatrices du système endocrinien humain les plus couramment répandus dans le monde entier. En conséquence, de nombreuses autorités sanitaires et des organismes de réglementation ont été mises en place pour contrôler le niveau des phtalates dans les produits de consommation en particulier les jouets destinés aux enfants [1, 82].

III.1. INTERNATIONALE

Il existe des réglementations internationales concernant la concentration de phtalates dans les jouets pour enfants. Les réglementations de l'UE, des États-Unis et du Canada, prévoient un niveau maximal autorisé de 0,1% en poids de jouets.

Les différents phtalates inclus dans ces réglementations sont le DEHP, le BBP, le DBP, le DNOP, le DINP et le DIDP. Les niveaux autorisés de ces phtalates dans les jouets pour enfants sont présentés dans le tableau 8 [32].

Tableau 8. Limites réglementaires internationales pour la composition en phtalates des jouets pour enfants.

Pays	Niveau maximal autorisé (% en poids)	Référence
UE	Tous jouets destinés aux enfants de moins de 3 ans : DEHP-DBP-BBP <0,1% en masse de matière plastifiée de l'un de ces phtalates comme substance ou dans des mélanges. Tous jouets destinés aux enfants et peuvent être mis dans la bouche* : DIDP-DINP-DNOP <0,1% en masse de matière plastifiée de l'un de ces phtalates comme substance ou dans des mélanges.	Annexe XVII du règlement REACH [49, 50].
États-Unis	Tous jouets destinés aux enfants <12 ans : DEHP-DBP-BBP <0,1% Tous jouets destinés aux enfants <12 ans et qui peuvent être mis dans la bouche* : DINP-DIDP-DNOP <0,1%	Consumer Product Safety Improvement (CPSIA) [52].
Canada	Jouets : DEHP-DBP-BBP <0,1% (1000mg/kg) Jouets et peuvent être mis dans la bouche* des enfants moins de 4 ans : DIDP-DINP-DNOP <0,1% (1000mg/kg)	Règlement sur les phtalates (DORS/2016-188) Mise à jour le 21 octobre 2020 [51].

*Une partie d'un jouet ou d'un article de puériculture peut être placée dans la bouche d'un enfant quand cette partie présente les caractéristiques suivantes :

a) elle peut être portée à la bouche de l'enfant et y demeurer de sorte que l'enfant peut la sucer ou la mastiquer ; b) l'une de ses dimensions est inférieure à 5cm [51, 52].

CHAPITRE III. REGLEMENTATION DES PHTALATES DANS LES JOUETS

La limite réglementaire de 0,1% des différents phtalates dans les jouets, équivaut à une interdiction des phtalates dans les plastiques, car un niveau minimal de 10% de phtalates, en poids, est requis pour obtenir l'effet plastifiant sur le PVC [5, 32].

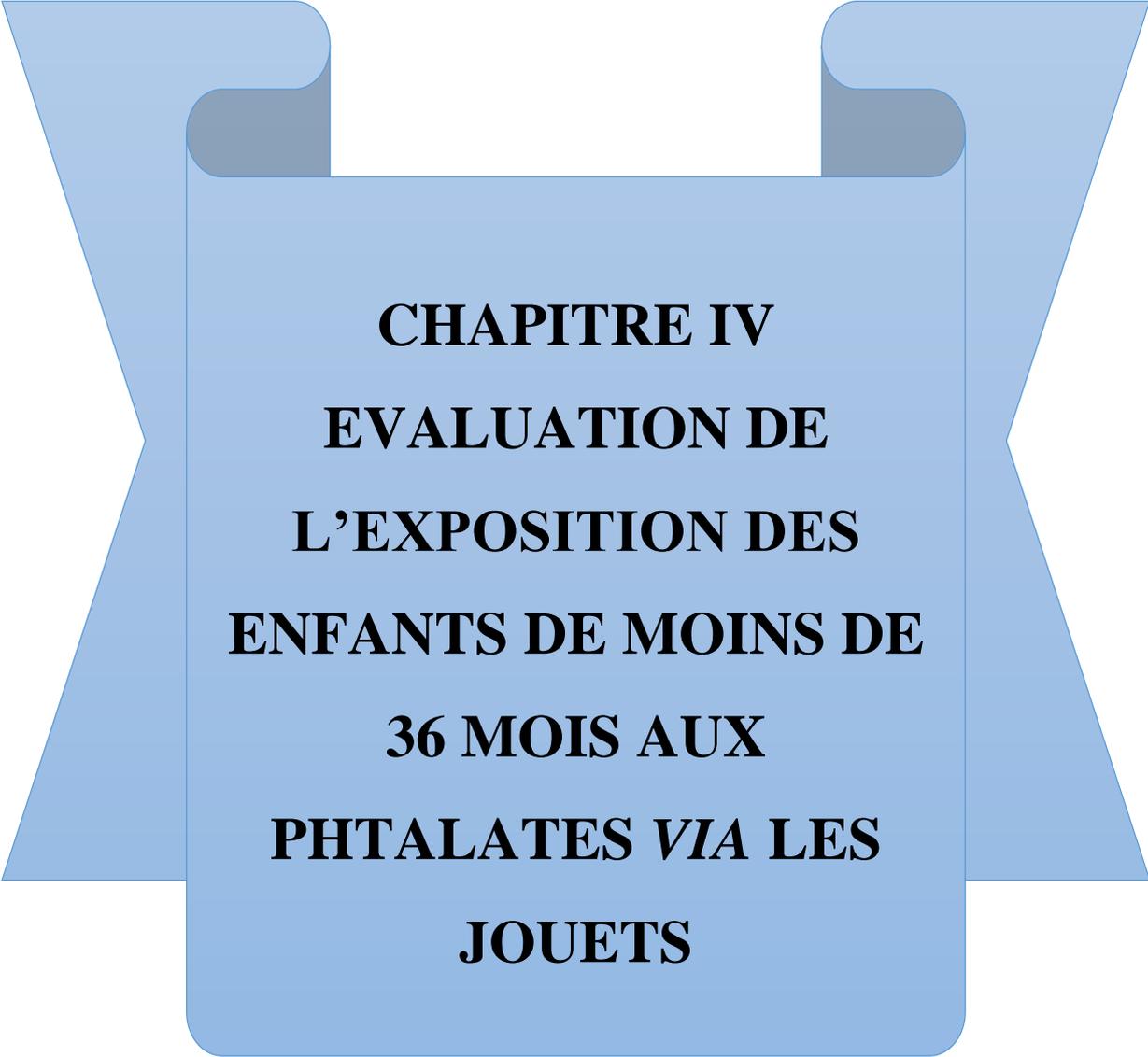
III.2. NATIONALE

En Algérie, il existe quatre textes réglementaires en relation avec les jouets jusqu'à ce jour.

1. Arrêté interministériel du 28 Chaabane 1418 correspondant au 28 décembre 1997 fixant la liste des produits de consommation présentant un caractère de toxicité ou un risque particulier ainsi que les listes des substances chimiques dont l'utilisation est interdite ou réglementée pour la fabrication desdits produits.
2. Arrêté du 16 Ramadhan 1417 correspondant au 25 janvier 1997 interdisant l'importation, la fabrication, la distribution et la commercialisation de jouets imitant des armes de poing et autres.
3. Décret exécutif n° 97-494 du 21 Chaabane 1418 correspondant au 21 décembre 1997 relatif à la prévention des risques résultant de l'usage des jouets.
4. Arrêté interministériel du 3 Moharram 1430 correspondant au 31 décembre 2008 modifiant l'arrêté interministériel du 28 Chaabane 1418 correspondant au 28 décembre 1997 fixant la liste des produits de consommation présentant un caractère de toxicité ou un risque particulier ainsi que les listes des substances chimiques dont l'utilisation est interdite ou réglementée pour la fabrication desdits produits.

Aucun de ces textes n'aborde une limite réglementaire des phtalates dans les jouets.

En Algérie, les phtalates sont réglementés uniquement dans les articles de puériculture selon l'arrêté interministériel du 6 Chaoual 1437 correspondant au 11 juillet 2016 portant adoption du règlement technique fixant les exigences de sécurité des articles de puériculture publié dans le journal officiel de la république algérienne n° 68 Correspondant au 27 novembre 2016 [55].



CHAPITRE IV
EVALUATION DE
L'EXPOSITION DES
ENFANTS DE MOINS DE
36 MOIS AUX
PHTALATES *VIA* LES
JOUETS

CHAPITRE IV. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

Pour garantir la sécurité de l'utilisation des produits chimiques dans les jouets, il faut démontrer que le niveau d'exposition des enfants à ces produits chimiques ne dépasse pas les valeurs limites pertinentes basées sur la santé (dose journalière tolérable, ou DJT en mg/kg pc/jour). L'évaluation de cette exposition implique la prise en compte de scénarios d'exposition spécifiques aux enfants et de facteurs d'exposition tels que ceux liés au comportement de jeu et aux caractéristiques physiologiques [41].

L'évaluation de l'exposition aux produits chimiques en général est un domaine d'étude très complexe, notamment en raison de la grande diversité des situations d'exposition et des activités humaines qui s'y rapportent. Les variations, tant naturelles qu'artificielles, des concentrations dans l'air, l'eau et les aliments d'un pays à l'autre sont tout aussi importantes. Ainsi, les données sur les niveaux de fond normaux dans ces compartiments et les estimations des expositions quotidiennes ne fournissent généralement qu'une image partielle [41].

L'exposition aux phtalates est souvent difficile à évaluer en raison de la multiplicité des sources potentielles et des situations [74].

Plusieurs rapports méthodologiques relatifs à l'évaluation des risques chimiques liés à l'utilisation de jouets existent. Le rapport l'institut national néerlandais pour la santé publique et l'environnement (Rijksinstituut voor Volksgezondheid RIVM 2008) intitulé « Chemicals in toys : A general methodology for assessment of chemical safety of toys with a focus on elements » constitue le rapport de référence [41].

L'utilisation de l'arbre de sélection des scénarios vise avant tout à éviter de négliger les scénarios d'exposition pertinents, en sélectionnant tous les scénarios susceptibles de se produire [41].

IV.1. VULNERABILITE DES ENFANTS AUX PHTALATES

Les enfants peuvent être plus vulnérables que les adultes aux risques environnementaux, tels que ceux présentés par les produits chimiques dans les jouets, en raison de leurs différences physiologiques et de leurs comportements uniques [4].

Il est généralement admis que les plus jeunes enfants sont plus exposés aux phtalates et ont des concentrations internes plus élevées, en raison des comportements liés à leur âge et à leur métabolisme immature [71]. Les périodes prénatale, postnatale, l'enfance et l'adolescence peuvent être considérées comme des périodes de sensibilité particulière aux phtalates [71].

Les preuves scientifiques suggérant que de faibles niveaux de produits chimiques toxiques affectent l'organisme en développement de façon plus défavorable que des niveaux similaires chez les adultes sont importantes sur ce point, ce qui suggère que les organismes en développement sont plus vulnérables que les adultes aux effets toxiques d'un produit chimique. En outre, il a été estimé que l'exposition aux phtalates est deux fois plus élevée chez

CHAPITRE IV. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

les enfants que chez les adultes, 40% des enfants (âgés de deux à six ans) présentant des concentrations urinaires de métabolites de phtalates supérieures à la concentration maximale mesurée chez les adultes [76].

IV.1.1. Caractéristiques physiologiques de l'enfant de moins de 36 mois

Les expositions aux toxiques des enfants sont très préoccupantes à cause d'un certain nombre de facteurs, notamment :

- Un taux métabolique plus élevé et un rapport surface/poids supérieur à celui des adultes ;
- Une croissance et un développement rapide des organes et des tissus ;
- Une immaturité des organes [71, 193].

L'exposition des enfants diffère également de celle des adultes, car les enfants boivent plus de liquides, mangent plus de nourriture et respirent plus d'air par kilogramme de poids corporel. Ils ont aussi de nombreuses années devant eux pour développer des maladies avec de longues périodes de latence. Ils reçoivent quotidiennement des expositions de faibles doses en provenance de divers produits avec lesquels ils entrent en contact [11, 194].

En raison de leur immaturité anatomique et/ou physiologique, les enfants diffèrent des adultes par de nombreuses caractéristiques biologiques.

Il existe des différences liées à l'âge dans la capacité d'absorption intestinale, la plupart des substances chimiques présentes dans l'environnement sont absorbées par simple diffusion en fonction de leur solubilité lipidique.

Une faible acidité gastrique augmente la fraction non ionisée de ces substances et permet donc une absorption accrue. La faible acidité gastrique du nourrisson permet également la colonisation du tractus intestinal par des organismes qui produisent une enzyme, la bêta-glucuronidase responsable de la déconjugaison dans l'intestin des composés conjugués dans le foie, facilitant ainsi leur réabsorption à travers le cycle entéro-hépatique (CEH).

L'intestin grêle du nouveau-né et du jeune enfant permet l'absorption de molécules relativement grosses [193].

La répartition de l'eau corporelle change avec l'âge, l'eau corporelle totale et l'eau extracellulaire sont plus élevées chez le nourrisson ; l'apport hydrique quotidien par kg de poids corporel du nourrisson et du jeune enfant est presque trois fois supérieur à celui de l'adulte.

La capacité de liaison des protéines plasmatiques est réduite chez le nouveau-né et le jeune enfant par rapport aux groupes les plus âgés. De même, la barrière hémato-encéphalique commence à se développer chez le *fœtus*, mais elle est nettement moins efficace chez le jeune enfant, ne devenant complètement efficace que vers l'âge de six mois [193].

CHAPITRE IV. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

La maturation développementale des fonctions hépatique et rénale tend à se produire simultanément. À la naissance, les réactions de la phase I dans le foie sont immatures.

L'activité augmente généralement rapidement au cours des quelques mois suivants, mais les schémas de développement varient. L'activité de la famille des cytochromes P450 augmente après la naissance. Les réactions de la phase II semblent généralement augmentées, passant d'un faible niveau d'activité avant la naissance à des valeurs plus élevées que chez l'adulte au cours des premiers mois ou années. Les schémas d'acétylation semblent également varier, les valeurs maximales étant atteintes assez tôt dans l'enfance dans certains cas [193].

L'excrétion rénale dépend de la maturation de la filtration glomérulaire, ainsi que de la réabsorption et de la sécrétion tubulaires. Le taux de filtration glomérulaire augmente après la naissance pour atteindre les valeurs adultes à l'âge de cinq mois, étant en partie déterminé par une augmentation du débit cardiaque et une diminution de la résistance vasculaire périphérique. La fonction tubulaire, qui est également faible à la naissance, augmente plus lentement dans la petite enfance. Dans l'ensemble, la fonction rénale atteint sa capacité adulte vers l'âge de 16 mois [193].

IV.1.2. Caractéristiques comportementales de l'enfant de moins de 36 mois

Les enfants ont des habitudes et des pratiques spécifiques qui peuvent donner lieu à des scénarios d'exposition non considérés pour d'autres groupes de population. Des comportements comme la mise en bouche, la succion et la mastication des objets tels que les jouets, peut entraîner une exposition orale non alimentaire aux substances qui migrent hors de l'objet [4, 5]. La mise en bouche décrit toutes les activités par lesquelles les mains, les doigts ou des objets sont touchés par la bouche ou mis dans la bouche [9].

Les bébés naissent avec un réflexe naturel de succion qui aide à l'allaitement et, en quelques mois, ils commencent à utiliser la succion ou la bouche comme un moyen pour explorer leur environnement. La succion fournit des nutriments essentiels sous forme d'allaitement au sein ou au biberon, ainsi qu'un sentiment de bien-être et de sécurité [6]. Sucrer devient également un moyen de réconfort lorsqu'un enfant est fatigué ou contrarié [9].

Selon la littérature scientifique, l'observation du comportement de mise en bouche chez les enfants de 0 à 36 mois confirme que les enfants, au cours de cette période, portent à la bouche une grande diversité d'objets ce qui conduit à un potentiel d'exposition plus élevé aux substances chimiques [5-7], et précisent que le plastique est le matériau le plus couramment mis en bouche [8, 9]

En général, le comportement de mise en bouche des enfants est étudié à l'aide de méthodes d'observation directe et d'enregistrement vidéo [7].

CHAPITRE IV. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

Les nouveau-nés ne sont pas directement en contact avec leur environnement tant qu'ils ne peuvent ramper ou marcher, et peuvent donc avoir une exposition moins importante aux phtalates. Quand ils grandissent, les enfants interagissent de plus en plus avec leur environnement, pendant la phase orale notamment, ils augmentent leur mobilité, jouent et rampent, ce qui accroît leur exposition aux phtalates [77].

Le tableau 9 présente les caractéristiques physiologiques et comportementales des enfants (de la naissance jusqu'à 36 mois).

CHAPITRE IV. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

**Tableau 9. Caractéristiques physiologiques et comportementales des enfants
(de la naissance jusqu'à 36 mois) [195].**

Groupe d'âge	Caractéristiques
Naissance jusqu'à < 6 mois	<p>Relatives au comportement : Temps passé à dormir ; alimentation au sein et au biberon. Le contact avec les surfaces augmente ; il porte les mains et les objets à la bouche ; il passe plus de temps près du sol.</p> <p>Relatives à la physiologie : Croissance et prise de poids rapides ; proportion croissante de graisse corporelle ; perméabilité élevée de la peau ; besoins élevés en oxygène (augmentation du rythme respiratoire) ; déficiences de l'activité enzymatique hépatique ; système immunitaire immature ; estomac plus alcalin ; augmentation du liquide extracellulaire ; fonction rénale inférieure à celle prédite à partir de la surface corporelle.</p>
6 mois jusqu'à < 12 mois	<p>Relatives au comportement : La consommation d'aliments augmente ; la mobilité augmente ainsi que contact avec les surfaces ; les enfants sont de plus en plus susceptibles de porter à la bouche des articles non alimentaires.</p> <p>Relatives à la physiologie : Croissance et prise de poids rapides ; l'augmentation de la masse grasse commence à se modérer ; déficiences de l'activité enzymatique hépatique ; système immunitaire immature. diminution rapide du liquide extracellulaire ; on peut commencer à prédire la fonction rénale à partir de la surface corporelle.</p>
12 mois jusqu'à < 24 mois	<p>Relatives au comportement : Consommation d'une variété d'aliments ; participation à des activités ludiques accrues, associée à une curiosité extrême et un mauvais jugement ; arrêt de l'allaitement au sein et au biberon ; les enfants marchent, courent et grimpent et se livrent à des activités physiques plus vigoureuses ; la fréquence de la mise en bouche des mains et des objets est élevée.</p> <p>Relatives à la physiologie : Certaines activités enzymatiques hépatiques atteignent un niveau supérieur à celui de l'adulte ; la plupart des fonctions du système immunitaire sont arrivées à maturité ; le liquide extracellulaire est lié de manière plus cohérente à la taille du corps.</p>
24 mois jusqu'à 36 mois	<p>Relatives au comportement : La fréquence du léchage des mains et des objets commence à diminuer.</p> <p>Relatives à la physiologie : Le niveau d'activité des enzymes hépatiques revient au niveau de l'adulte.</p>

CHAPITRE IV. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

IV.2. SCENARIOS D'EXPOSITION AUX PHTALATES VIA LE JOUET CHEZ LES ENFANTS DE MOINS DE 36 MOIS

IV.2.1. Principaux scénarios d'exposition aux substances toxiques *via* les jouets

La voie et le niveau d'exposition aux substances chimiques présentes dans les jouets, quel que soit leurs natures et l'âge auquel le jouet est destiné, sont liés à la fois aux propriétés physico-chimiques de la substance chimique et à la manière dont le jouet est utilisé par l'enfant, ce qui peut être décrit par des scénarios d'exposition [41].

Le large éventail de jouets disponibles donne lieu à de nombreux scénarios d'exposition différents. Six scénarios d'exposition généraux ont été décrits, qui devraient couvrir les modes d'exposition les plus pertinents aux substances chimiques contenues dans les jouets : ingestion directe, mise en bouche (succion et léchage), inhalation par évaporation, inhalation par poussière ou par pulvérisation, et contact avec la peau.

Un jouet particulier peut être composé de plusieurs pièces et matériaux auxquels différents modes d'exposition peuvent être associés [41].

a. Ingestion directe

On peut supposer que l'ingestion directe de jouets et de matériaux de jouets se produit principalement chez les enfants de moins de 3 ans en raison du comportement d'exploration orale qui est naturel à cet âge. Les jouets destinés aux enfants de cet âge sont réglementés de telle sorte qu'ils ne doivent pas contenir de petites pièces détachables pouvant présenter un risque d'étouffement. Ces pièces ne doivent donc pas non plus être accessibles pour être ingérées. Les jouets constitués de matériaux secs, cassants, pulvérulents ou souples, comme les crayons de couleur, le plâtre ou la pâte à modeler, peuvent également être ingérés, par exemple par contact main-bouche. En outre, certains jouets peuvent comporter une couche de peinture ou autre revêtement, ou des fibres textiles qui peuvent être facilement grattées et avalées [41].

b. Mise en bouche (succion et léchage)

Comme dans le cas du scénario d'ingestion directe, on peut supposer que les enfants de moins de 36 mois sont les plus nombreux à mettre en bouche les jouets. En fait, certains jouets disponibles sur le marché sont spécifiquement conçus pour être mâchés. Il convient de noter que les études sur le comportement de mise en bouche ont démontré que les enfants mettent en bouche un large éventail d'objets, y compris des jouets et d'autres objets non destinés à être mis en bouche. Bien que les dimensions de certains jouets soient telles qu'ils ne peuvent être

CHAPITRE IV. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

placés dans la bouche, les crêtes peuvent néanmoins être sucées. En outre, certains jouets sont destinés à être placés dans la bouche [41].

c. Inhalation par évaporation

Un certain nombre de jouets peuvent libérer des substances chimiques dans l'air par évaporation, comme le solvant d'un feutre. Pour s'évaporer, la substance chimique doit être très volatile pour pouvoir être inhalée. En général, cette voie est susceptible d'être moins pertinente pour l'exposition systémique si une exposition orale se produit également [41].

d. Inhalation par la poussière ou le spray

Certains jouets peuvent libérer des quantités considérables de poussière, comme les mélanges de plâtre et les crayons de couleur. D'autres jouets peuvent libérer des substances chimiques dans l'air par le biais d'un système de pulvérisation. À l'heure actuelle, on connaît très peu d'exemples de jouets sous forme de sprays [41].

e. Contact cutané

La plupart des jouets, entreront à un moment donné en contact avec une partie de la peau. De nombreux jouets sont manipulés avec les mains, mais certains peuvent également être mis en contact avec la peau d'autres parties du corps [41].

f. Contact oculaire

Le contact avec les yeux peut ne pas sembler être une catégorie d'exposition pertinente pour les jouets, car il a été rapporté que la plupart des blessures liées aux jouets sont de nature physique plutôt que chimique [41].

Comme plus d'un scénario d'exposition peut être pertinent pour un type de jouet particulier, il est proposé de déterminer les scénarios d'exposition pertinents au cas par cas, au moyen d'un arbre de sélection de scénarios, plutôt que de fournir des groupes rigides de types de jouets pour chaque catégorie. Un arbre de sélection de scénarios pour les jouets destinés aux enfants de moins de 3 ans a été conçu (Figure 15).

CHAPITRE IV. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

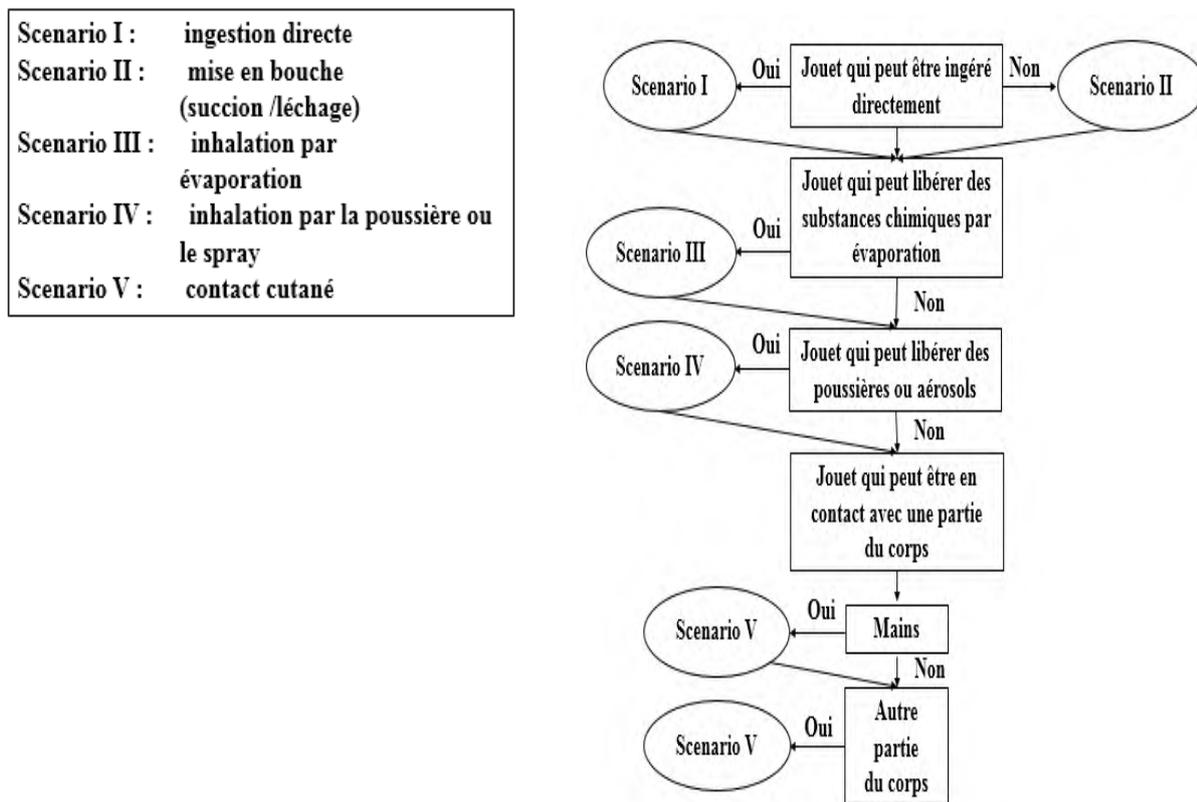


Figure 15. Arbre de sélection des scénarios d'exposition [41].

IV.2.2. Identification des scénarios d'exposition pertinents aux phtalates à partir des jouets destinés aux enfants de moins de 36 mois

Pour les enfants âgés de moins de 36 mois et pour les jouets destinés à être mis en bouche, l'exposition orale est la voie d'exposition systémique la plus pertinente [41].

Les jouets destinés aux enfants de moins de 36 mois sont réglementés de telle sorte qu'ils ne devraient pas contenir de petites pièces détachables pouvant présenter un risque d'étouffement. Ces pièces ne devraient donc pas être accessibles et être ingérées directement (exigences physiques et mécaniques des jouets) [57]. Ainsi, l'ingestion directe d'une partie du jouet n'a pas été prise en compte dans l'évaluation de l'exposition des enfants de moins de 36 mois aux phtalates *via* les jouets.

Selon le RIVM, l'évaluation des risques sanitaires des phtalates *via* des jouets a été conduite en considérant exclusivement la migration des substances dans la salive lors de la mise en bouche d'un jouet en matière plastique par un enfant. Cette voie d'exposition a été jugée la plus pertinente [41].

RIVM recommande pour l'évaluation de l'exposition de tous les jouets qui ne contiennent pas de petites pièces, mais qui peuvent être placés dans la bouche doit inclure des scénarios

CHAPITRE IV. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

d'exposition spécifique pour les jeunes enfants, quelle que soit la catégorie d'âge à laquelle le jouet est destiné [41].

La plupart des jouets pour lesquels aucun matériau ne peut être ingéré, peuvent néanmoins être mis en bouche. Il convient de noter que même si les dimensions du jouet sont telles qu'elles ne peuvent pas être placée dans la bouche, elle peut encore être léchée et sucée [41].

De nombreuses familles sont composées d'enfants d'âges différents, et l'on peut s'attendre à ce que les jeunes enfants aient souvent facilement accès aux jouets appartenant à leurs frères et sœurs plus âgés. Mâcher les mains et les objets est un comportement naturel pour les bébés, les nourrissons et les jeunes enfants. En effet, la liste des objets mis en bouche par les enfants de moins de 36 mois, telle qu'observée dans plusieurs études sur la mise en bouche, comprenait de nombreux articles (pas seulement des jouets) non destinés aux enfants de moins de 36 mois. En fait, Smith et Norris (2003) ont signalé qu'au moins 75% des objets mis en bouche par les enfants dans leur étude étaient considérés comme n'étant pas destinés à être mis en bouche [196]. Par conséquent, le fait que de jeunes enfants aient accès à des jouets destinés à des enfants plus âgés peut être considéré comme une « utilisation de manière prévisible ». Il n'est donc pas justifié d'exclure de l'évaluation de l'exposition les scénarios d'exposition spécifiques aux jeunes enfants simplement sur la base de la catégorie d'âge à laquelle est destiné le jouet considéré [41].

IV.3. FORMULES ET VARIABLES POUR L'EVALUATION DE L'EXPOSITION

Une fois que les scénarios d'exposition pertinents pour un type de jouet particulier ont été déterminés, l'exposition aux produits chimiques peut être évaluée en utilisant les formules mathématiques applicables liées aux scénarios et les valeurs appropriées pour les variables, ou les facteurs d'exposition dont les valeurs sont souvent très incertaines [41].

Au fil du temps, de nombreuses approches mathématiques ont été utilisées pour estimer l'exposition des enfants à la suite de la mise en bouche de jouets [4].

Il convient de noter que les évaluations de l'exposition qui en résultent sont des estimations approximatives en raison de l'utilisation de formules mathématiques pragmatiques très simples qui simplifient à l'excès l'exposition réelle. En outre, la sélection de valeurs de paramètres réalistes dans le pire des cas aboutit à une évaluation qui peut considérablement surestimer l'exposition [41].

L'âge joue un rôle clé dans les considérations sur l'exposition par la mise en bouche des jouets chez l'enfant [4]. La population d'intérêt est scindée en trois classes d'âge afin d'appréhender

CHAPITRE IV. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

les évolutions rapides en termes de développement psychomoteur chez l'enfant entre 0 et 36 mois. Si la distinction des classes d'âge 1-2 ans et 2-3 ans est généralement admise, certains rapports préconisent en revanche, de prendre en compte des classes d'âge plus fines pour les enfants entre 0 et 12 mois. Les classes d'âge retenues dans cette partie ne tiennent pas compte de cette dernière recommandation, car il n'existe pas suffisamment de données pour établir de façon précise, des sous-classes corrélées au comportement de mise en bouche et au poids de l'enfant [3, 4, 41].

Selon RIVM (2008), les niveaux d'exposition calculés avec la formule donnée ci-dessous se réfèrent à un événement d'exposition, c'est-à-dire un événement de jeu avec le jouet. Pour la comparaison avec les valeurs limites basées sur la santé qui sont liées à une exposition chronique, comme la DJT, les niveaux d'exposition peuvent être supposés se produire quotidiennement. Cependant, pour certains types de jouets, une exposition quotidienne peut ne pas être réaliste. Les évaluations de l'exposition pour ces jouets doivent être ajustées en conséquence. Dans la mesure du possible, des valeurs par défaut seront fournies par scénario d'exposition.

Selon RIVM (2008), dans le scénario d'exposition par la mise en bouche de jouet, la quantité du produit chimique ingéré par la bouche peut être calculée comme suit [41] :

$$D = A \times w_f / W_{body} \times (1 - \exp(-\frac{R_m \times S}{A \times w_f} \times t))$$

Avec :

A : la quantité totale de produit mis en bouche [kg].

R_m : la vitesse à laquelle le produit chimique migre à partir du produit [kg/m².s].

S : la surface du produit qui est mis en bouche [m²].

w_f : fraction pondérale du produit chimique dans le produit [fraction].

t : temps de mise en bouche [s].

W_{body} : poids corporel de la personne exposée [kg].

Les valeurs des paramètres nécessaires pour ce calcul sont :

A : la quantité totale de jouet qui est mise en bouche. Cette quantité peut être déterminée en calculant le volume du jouet qui peut être mis en bouche et en multipliant cette valeur par la densité du matériau dont est fait le jouet.

R_m : la vitesse à laquelle un produit chimique migre à partir du produit.

S : la surface du jouet qui est mise en bouche. Le travail d'évaluation des risques pour les produits chimiques organiques a supposé une valeur de 10cm² pour la surface du jouet mis

CHAPITRE IV. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

en bouche (Comité européen de normalisation (CEN), 2004). La valeur de 10cm² fait probablement référence à la surface d'un jouet qui peut être placé dans la bouche en une seule fois.

w_r : fraction du produit chimique dans le jouet. Cela dépend entièrement du matériau dont est composé le jouet et aucune valeur par défaut ne peut être donnée.

La quantité totale de produit chimique ayant migré du jouet (matériau) peut également être utilisée, par exemple si les données de composition du matériau ne sont pas disponibles. La quantité de produit chimique migré dépend entièrement de la combinaison produit chimique-matériau et doit être évaluée à l'aide des essais *in vivo* et *in vitro*.

t : temps de la mise en bouche. Le travail d'évaluation des risques pour les produits chimiques organiques a supposé une valeur de 3h par jour (Comité européen de normalisation (CEN), 2003). La valeur de 3h a été adoptée par l'avis du CSTEE de 1998, 6^{ème} réunion plénière dans le cadre des évaluations des risques des phtalates dans les jouets [41].

Des temps de mise en bouche moyens similaires ont été rapportés par Juberg et *al.* (2001) [6]. Deux études ont été publiées depuis. La première étude a été menée par le ministère britannique du commerce et de l'industrie, qui a rapporté les durées moyennes et maximales de mise en bouche de jouets et d'autres articles pour des enfants de différents groupes d'âge jusqu'à 5 ans [196, 197]. Les enfants âgés de 6 à 9 mois présentaient le plus de comportements de mise en bouche. Pour ce groupe, le temps moyen de mise en bouche des jouets était de 39min.

Une deuxième étude a été publiée par la commission américaine de sécurité des produits de consommation, qui a mené une étude d'observation de l'activité de mise en bouche de 169 enfants âgés de 3 à 36 mois [31]. À partir de cette étude, les durées quotidiennes de mise en bouche d'objets sélectionnés peuvent être calculées en multipliant la durée horaire de mise en bouche (min/h) par le temps d'exposition quotidien.

La durée horaire de mise en bouche est définie comme le temps par heure pendant lequel l'article est effectivement dans la bouche de l'enfant ou touche ses lèvres. Le temps d'exposition quotidien est défini comme le temps pendant lequel un enfant est éveillé et ne mange pas et il est estimé par le modèle :

$$T_{\text{jour}} = 9,46 + 0,0375 \times \text{Âge (mois)}$$

Pour les enfants âgés de 3 à 36 mois, la durée d'exposition est donc d'environ 10h.

Les durées moyennes de mise en bouche observées dans ces études sont nettement inférieures à la valeur de trois heures utilisée par le CSTEE. Cependant, l'utilisation de cette valeur peut être clarifiée si l'on tient compte de l'asymétrie des données, car il a été observé dans ces études de mise en bouche que peu d'enfants mettent en bouche des objets pendant une longue période

CHAPITRE IV. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

et que beaucoup d'enfants mettent en bouche des objets pendant une courte période ou pas du tout. Par exemple, dans l'étude de DJT, la durée moyenne de mise en bouche par les enfants âgés de 6 à 9 mois était de 39min, alors que la durée maximale de mise en bouche des jouets était de 3h et 46min [196, 197]. De même, dans l'étude de Juberg et *al.* (2001)[6], les durées moyennes et médianes quotidiennes de succion de non sucettes (y compris les anneaux de dentition et les jouets) par des enfants âgés de 0 à 18 mois étaient d'environ 35 et 15min respectivement, alors que des durées quotidiennes de mise en bouche de plus de 300min ont également été observées.

Pour protéger le groupe relativement restreint d'enfants qui présentent ces durées de mise en bouche plus longues, il est recommandé de continuer à utiliser trois heures par défaut pour la durée de mise en bouche. Cependant, cet exemple de durées de mise en bouche très variables soutient l'utilisation de méthodes probabilistes pour évaluer de manière adéquate l'exposition aux produits chimiques contenus dans les jouets qui peuvent être mis en bouche [41].

W_{body} : Poids corporel de l'enfant. Pour les jouets destinés aux jeunes enfants, il convient d'utiliser le poids corporel des enfants présentant le plus de comportements de mise en bouche (6-9 mois, environ 7,5 kg) [41].

Dans le but d'identifier les approches les plus utiles et les plus couramment utilisées pour estimer l'exposition associée aux activités de mise en bouche, l'organisation de coopération et de développement économique (OCDE) a élaboré un document récent (2019) en se concentrant sur la mise en bouche d'objets par les nourrissons et les enfants, sur la base de quinze études de cas. Le document fournit des informations sur quinze études de cas et, sur la base de ces études de cas, discute des considérations clés concernant les approches, les paramètres et les valeurs par défaut utilisés pour estimer l'exposition des enfants suite à l'utilisation d'objets par la bouche [4].

Le tableau 10 donne un aperçu des algorithmes et des paramètres utilisés dans les études de cas des phtalates dans les jouets en plastique.

CHAPITRE IV. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

Tableau 10. Résumé des principaux algorithmes de mise en bouche dans les études de cas des phtalates dans les jouets en plastiques selon l'OCDE [4].

Formule	Équation pour estimer l'exposition (µg/kg pc/jour)	Paramètres					
1	$M \times SA \times T \times n \times B / 100 / BW$	M = Taux de migration	SA = Surface de la bouche (10cm ²)	T = Temps de mise en bouche (h/jour)	n = Fréquence de mise en bouche	BW = Poids corporel	B = Biodisponibilité
2	$M \times SA \times T / BW$				—		—
3	$M_p \times M_h / M_l \times T_h \times T_d / BW$	M _p = Taux de migration du produit (µg/min)	M _h = Taux de migration (µg/min) (avec sujet humain)	M _l = Taux de migration au Laboratoire (JRC méthode)	(T _h *T _d) = Temps de mise en bouche (min/jour)	—	
		Les taux de migration des études <i>in vitro</i> ont été ajustés pour être appliqués à l'estimation <i>in vivo</i> (taux de migration <i>in vivo</i> dérivé de la mastication de disques de 10cm ² par des adultes)					

CHAPITRE IV. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

De nombreux algorithmes utilisent des approches très similaires qui intègrent les paramètres suivants :

- Le taux de migration ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$) (M) ;
- La surface (cm^2) (SA) ;
- Le temps de mise en bouche (h/jour) (T) ;
- Le poids corporel (BW).

Lorsque des données de migration sont disponibles, les algorithmes/approches pour estimer l'exposition par la bouche sont relativement cohérents. Si les données de migration sont considérées comme étant de qualité adéquate et représentative de la substance/objet examiné, le paramètre présentant le plus de variabilité et d'incertitude peut être la « durée d'exposition ». En l'absence de données de migration, diverses approches ont été utilisées. Une approche simple, notée dans certaines études de cas, consiste à utiliser la quantité totale de substance dans l'objet et à appliquer des facteurs (par exemple, la probabilité que l'objet contienne la substance, la fraction de la substance sur la surface de l'objet) pour décrire la quantité qui serait disponible pour être ingérée par les activités de mise en bouche.

V.3.1. Paramètres primaires (communs à la plupart des algorithmes)

a. Taux de migration (quantité de substance extraite pendant la mise en bouche)

Dans les études de cas, une grande variété de méthodologies a été utilisée pour dériver les taux de migration, y compris une méthode *in vivo* (par exemple, la collecte de salive après avoir mâché un disque).

Lorsque les données sur la migration n'étaient pas disponibles, diverses options ont été utilisées pour estimer la quantité de substance disponible pour l'absorption par la bouche, y compris des considérations sur la concentration d'une substance dans l'objet combinée à une fraction considérée comme disponible pour l'ingestion.

Il convient d'accorder une attention particulière à la sélection de la valeur moyenne, de la valeur raisonnable la plus défavorable ou de la valeur maximale pour le taux de migration à utiliser dans l'algorithme.

La force et la pertinence de l'étude du taux de migration doivent être soigneusement examinées, y compris le protocole et la gamme de concentrations du produit (par exemple, les concentrations de la substance utilisées dans l'étude doivent être pertinentes/possibles à extrapoler au scénario d'exposition). Les protocoles d'étude de migration (par exemple (Simoneau et *al* [198], US EPA, 2017 [199])) peuvent être utilisés pour évaluer les forces et les limites d'une étude donnée.

CHAPITRE IV. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

D'une manière générale, la quantité de phtalate individuel qui migre à partir du jouet dans la salive est déterminée préalablement dans les essais de migration salivaire *in vitro* et *in vivo*. Pour les jouets qui ont subi une migration *in vitro* répétée, la valeur maximum mesurée a été retenue dans une approche raisonnablement protectrice [3].

b. Poids corporel d'un enfant (kg)

Les poids corporels utilisés dans les évaluations portant uniquement sur les enfants de moins d'un an variaient entre 5kg et 9,9kg (soit un écart de 2 fois). Les études de cas qui incluaient une catégorie d'âge plus large (par exemple de 6 mois à 4 ans) présentaient des valeurs nettement plus élevées. Lorsque la catégorie d'âge <1 an est regroupée avec une catégorie d'âge plus élevée, un poids corporel supérieur à 10kg a été utilisé ; cela peut sous-estimer l'exposition des enfants <1 an. La séparation des catégories d'âge par moins de 12 mois peut être envisagée au cas par cas ; ce niveau de raffinement n'est pas toujours justifié [4].

Généralement, les données sur le poids corporel des enfants de moins de 36 mois sont retenues à partir du rapport de l'ANSES 2016 (Tableau 11) [3].

Tableau 11. Poids corporels de l'enfant de 0 à 36 mois [3].

Catégorie d'âge (ans)	Poids corporel (kg)		
	Minimum	Moyenne	Maximum
0-1 an	2,6	7,5	11,5
1-2 ans	8	11,1	16
2-3 ans	9,88	13,2	20

c. Surface de l'objet en contact avec la bouche (cm²)

Ce paramètre est généralement décrit comme la surface de la bouche ouverte d'un enfant ou comme la surface de l'objet mis en bouche par un enfant. Dans la plupart des études de cas utilisant un paramètre de surface dans les algorithmes, 10cm² ont été utilisés.

L'utilisation de 10cm² est une surface communément acceptée pour les activités de mise en bouche. Les études de migration utilisent généralement 10cm² ; les unités pour décrire le taux de migration (par exemple, µg/cm²/h ou µg/h) et la surface de l'objet doivent être prises en compte lors du calcul de l'exposition.

Le type et la densité du matériau peuvent être un autre facteur à prendre en compte dans la surface exposée (par exemple, la surface du papier ou du textile peut être inférieure à celle d'un objet en mousse).

En l'absence de données plus pertinentes sur ce paramètre, la surface de contact retenue est de 10cm², quelle que soit la classe d'âge. Cette valeur correspond à une surface standard

CHAPITRE IV. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

de test. Cette surface semble toutefois cohérente par rapport à la taille attendue des objets mis en bouche [3, 4, 41].

d. Durée d'exposition/temps passé à mettre le produit en bouche

Pour la plupart des études de cas, les durées typiques se situent entre 0,3 et 1,5h ; 2 h ont souvent été utilisées comme valeur la plus défavorable pour les jouets en plastique. Quelques études de cas ont utilisé des durées d'exposition très courtes comme valeurs typiques (par exemple, 0,07-0,15h/jour). Les valeurs moyennes de la durée de contact pour les enfants de moins d'un an vont de 9min/h (6-12 mois) à 11min/h (3-6 mois) selon les données de Juberg et *al.* (2001) [6] et Beamer et *al.* (2008) [200].

Dans certaines études de cas, la durée quotidienne de mise en bouche n'a pas été fournie séparément mais a été présentée comme deux facteurs distincts : la durée totale d'exposition (h/jour) et la durée horaire de mise en bouche (min/h).

La durée totale d'exposition représentait le temps d'éveil et de non-alimentation et était liée à l'âge de l'enfant. La durée d'exposition est considérée comme un paramètre clé qui est très variable (les valeurs typiques de la durée vont de 0,07 à > 3h/jour) sur la base des études de cas. Lors de la sélection de la durée d'exposition, il convient de tenir compte du fait que l'objet est susceptible d'être souvent avec l'enfant (par exemple, jouet ou non) ainsi que de la possibilité pour l'enfant d'avoir à sa disposition plusieurs objets pouvant contenir la substance.

Des objets différents peuvent entraîner l'utilisation de valeurs de durée d'exposition plus ou moins élevées.

D'après le rapport de l'ANSES (2016) ; les données de mise en bouche extraites du rapport du Comité européen de normalisation (CEN, 2015) ont été retenues pour l'évaluation des expositions en raison de sa robustesse. En plus, elle présente l'avantage d'être récente (Tableau 12) [3].

Tableau 12. Durée moyenne de mise en bouche (min/jour) [3].

Classe d'âge	1 -12 mois	12-24 mois	2-3 ans
Durée moyenne de mise en bouche	56	17,1	

IV.3.2. Paramètres secondaires

a. Absorption orale

Lorsque les facteurs d'absorption orale ou de biodisponibilité orale sont intégrés dans les estimations d'exposition, il convient d'examiner attentivement la valeur correspondante

CHAPITRE IV. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

utilisée dans l'étude toxicologique. Dans certains cas, l'application d'une fraction de biodisponibilité orale peut ne pas être appropriée [4].

b. Fraction de l'objet mis en bouche

L'application de la fraction de l'objet mouillé peut être considérée comme plus appropriée lorsque les taux de lixiviation sont basés sur l'objet entier. Lors de l'application de ce facteur, on peut prendre en considération la surface de l'objet mouillée (c'est-à-dire la surface de l'objet x la fraction de la surface de l'objet mouillée) par rapport aux 10cm² généralement utilisés dans d'autres algorithmes/approches [4].

c. Fraction de l'extraction par la salive

Il convient d'accorder une attention particulière à l'intégration de ce facteur afin d'éviter les doublons (par exemple, l'intégration de ce facteur avec une valeur de taux de migration peut être considérée comme inappropriée).

Lorsqu'un facteur d'extraction de salive est incorporé, il peut avoir un impact plus faible sur la valeur d'exposition [4].

d. Pourcentage de la substance sur la surface de l'objet

Le traitement d'une surface avec une substance par rapport à l'imprégnation totale peut jouer un rôle à la fois sur la quantité de substance disponible pour l'ingestion et sur la vitesse de migration. Il convient de tenir compte du rôle de la substance dans le matériau et de savoir si elle est censée être répartie uniformément dans un objet donné ou seulement à la surface [4].

e. Probabilité que l'objet contienne la substance

Les facteurs décrivant la probabilité que l'objet contienne la substance sont rarement utilisés dans les études de cas. L'estimation de l'exposition, lorsqu'on utilise un facteur de probabilité, ne représentera plus l'exposition estimée « le jour de l'exposition » [4].

IV.4. EVALUATION DE L'EXPOSITION

L'exposition des enfants aux substances chimiques contenues dans les jouets ne doit pas dépasser un certain niveau basé sur la santé (dose journalière tolérable, ou DJT en mg/kg pc/jour) [41]. Étant donné que les enfants sont également exposés à des substances chimiques par d'autres sources que les jouets, nous préconisons qu'un certain pourcentage de la DJT soit attribué aux jouets [41].

Il convient de déterminer si l'estimation de l'exposition concerne des scénarios d'exposition aiguë, intermittente ou chronique en fonction des paramètres et des hypothèses utilisés.

Il convient de se demander si l'estimation de l'exposition due à la mise en bouche sera agrégée à d'autres expositions du nourrisson/de l'enfant (par exemple, les expositions dues à l'ingestion

CHAPITRE IV. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

de poussière, à l'air intérieur, à la nourriture, à l'allaitement et aux cosmétiques tels que les crèmes pour couches).

Il faut tenir compte de toute la gamme de concentrations dans laquelle une substance peut être présente ainsi que de la gamme de matériaux disponibles pour les enfants contenant la substance lors de la dérivation des estimations d'exposition.

En l'absence de données, des hypothèses prudentes doivent être utilisées pour s'assurer que les estimations d'exposition ne sous-estiment pas l'exposition [4].

D'après la littérature scientifique, les enfants présentent des taux urinaires de métabolites de phtalates plus élevés que les adultes, ce qui suggère qu'ils sont plus exposés aux phtalates et donc plus sensibles aux atteintes de la santé causées par l'environnement [136].

L'étude européenne de Wormuth en 2006 [81], a modélisé les niveaux en phtalates d'une population européenne incluant des enfants et a estimé que l'exposition des enfants aux huit phtalates étudiés était une puissance de 10 fois plus élevée que celle des adultes. Les enfants et nourrissons ont une exposition journalière plus importante à deux phtalates, les DINP et DIDP. Leur exposition au DEHP et au DINP a été estimée à plus de 100µg/kg de poids corporel/jour (jouets, ingestion de poussière et de nourriture). L'exposition maximale estimée dans cette étude est considérablement plus élevée que le TDI pour le DEHP et du même ordre de grandeur que le TDI pour le DINP [81].

Les sources d'expositions aux phtalates sont multiples : l'alimentation, les cosmétiques, les jouets en plastique, les médicaments et dispositifs médicaux mais aussi directement par inhalation de l'air intérieur qui est fortement contaminé. Au vu du nombre conséquent de sources différentes, de la multitude d'études et des scénarios d'exposition différents, il est difficile d'estimer une exposition journalière précise à laquelle un individu est soumis mais nous pouvons nous concentrer sur un ordre de grandeur. Déterminer l'exposition totale va dépendre en particulier de la population (adulte ou enfant) et de leurs milieux de vie.

Rappelons que cette estimation est non exhaustive et permet seulement d'avoir une idée d'un ordre de grandeur.

De même, étudier les substances « individuellement » n'est plus doté de sens et sous-estime le risque lié à leurs expositions simultanées. La notion d'effet cocktail est donc incontournable et la réglementation devrait y être le plus rapidement adaptée.

C'est l'usage de produits de consommations (jouets, objets en plastique) et les sources de l'environnement intérieur des maisons (air et poussière contaminés par l'usage de produits plastifiés pour les matériaux de construction et d'aménagement, produits cosmétiques) qui détermine l'exposition au DINP, tandis que c'est l'alimentation qui a le plus d'influence sur

CHAPITRE IV. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

l'exposition au DEHP. Des incertitudes sont cependant inévitables car les différentes sources et voies d'exposition sont difficiles à quantifier [71].

Une étude américaine a estimé l'exposition au DINP *via* les jouets de 5,7 à 44 μ g/kg/j en fonction des hypothèses et des techniques statistiques choisis [201].

Le tableau exprime l'exposition journalière interne pour huit phtalates en μ g/kg/j pour les enfants de moins de 36 mois. L'estimation basée sur un suivi ambiant et des scénarios de calcul pour l'ingestion d'aliments, d'air, d'eau de produits de consommations, de poussières intérieures, de succion de jouets, *etc.* Cette modélisation permet de vérifier l'importance des expositions dues au DEHP et au DINP [74, 81].

Tableau 13. Exposition journalière interne pour huit phtalates en μ g/kg/j chez les enfants de moins de 36 mois [74, 81].

	Enfants 0-12 mois (5,5kg)		Très jeunes enfants 1-3 ans (13kg)	
	Moyenne	Maximum	Moyenne	Maximum
DMP	1,81	23,46	0,76	9,72
DEP	3,48	19,74	1,49	8,31
DBP	1,57	5,58	0,68	2,62
DnBP	7,60	44,92	2,55	25,42
BBP	0,76	7,56	0,31	3,67
DEHP	16,16	135,28	6,31	62,10
DINP	21,98	135,02	7,07	67,19
DIDP	1,43	8,99	0,51	4,24
Somme	54,80	380,57	19,68	183,28

IV.5. VALEURS TOXICOLOGIQUES DE REFERENCES (VTR)

Les valeurs toxicologiques de référence (VTR) permettent de qualifier ou de quantifier un risque pour la santé humaine, par comparaison aux apports journaliers présentant un taux d'exposition globale. Les VTR sont :

- La dose dérivée sans effet DNEL (de l'anglais, Derived No-Effect Levels),
- La dose journalière tolérable DJT (ou TDI de l'anglais, Tolerable Daily Intake).

Un apport journalier aux plastifiants supérieurs aux valeurs DNEL ou DJT présenterait un risque potentiel pour la santé humaine [202].

IV.5.1. La dose dérivée sans effet (DNEL)

La DNEL est une valeur toxicologique de référence représentant le seuil maximal d'exposition à la substance auquel l'être humain peut être soumis sans danger pour sa santé. La DNEL est élaborée pour les effets à seuil de dose.

CHAPITRE IV. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

Les DNEL sont estimées à partir des NOAEL (de l'anglais, No Observed Adverse Effect Level, dernières doses sans effets toxiques chez l'animal) en prenant en considération différents facteurs de sécurité [202].

Le facteur de sécurité entre NOAEL et DNEL est souvent compris entre 100 et 1000.

Il prend en compte :

- Le facteur de sécurité inter-espèces. Par exemple la sensibilité potentielle accrue de la physiologie humaine à un plastifiant par rapport à la sensibilité des espèces animales testées,
- Le facteur de sécurité intra-espèce constituant la diversité physiologique au sein de la même espèce,
- Un facteur de sécurité supplémentaire lié à la variabilité de la méthode utilisée.

Tableau 14. DNEL de DEHP /DINP pour une administration à long terme par voie pulmonaire, cutanée et orale dans la population générale [202].

	DEHP	DINP
DNEL par voie pulmonaire (mg/m³)	0,13	15,3
DNEL par voie cutanée (mg/kg masse corporelle/j)	0,72	220
DNEL par voie orale (mg/kg masse corporelle/j)	0,04	4,4
DNEL moyenne (mg/kg masse corporelle/j)	0,30	79,90

IV.5.2. La dose journalière tolérable (DJT)

La DJT (Tolerable Daily Intake TDI en anglais) est une valeur toxicologique de référence, étant définie par l'OMS comme la dose d'une substance (exprimée en fonction du poids corporel en mg/kg/poids corporel), qui peut être ingérée pendant une vie entière sans risque sanitaire notable et avec une marge de sécurité [203].

Lorsque la DJT existe, c'est celle-ci qui est utilisée comme référence toxicologique. Si les valeurs de DJT pour un composé chimique n'existent pas, les DNEL basées sur les voies d'administration sont choisies comme références. En réalité, les DJT correspondent aux plus faibles valeurs DNEL quelle que soit la voie d'exposition [202].

Le tableau 15 résume les valeurs toxicologiques de référence orales à seuil pour des expositions chroniques au DEHP et DINP.

CHAPITRE V. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

Tableau 15. Valeurs toxicologiques de référence orales à seuil pour des expositions chroniques au DEHP et DINP [32, 71, 86, 203-205].

Organisme	Phtalates	Effet critique (espèce animale)	Dose critique (NOAEL/ LOAEL)	UF Factor d'incertitude	VTR (mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹)
ATSDR (2002)	DEHP	Aspermatogenèse (rats F344)	NOAEL = 5,8mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹ Par l'alimentation 104 semaines	100	MRLc = 0,06
	DINP	*	*	*	*
Santé Canada (1994)	DEHP	Toxicité du développement (souris)	NOAEL = 44mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹ Par l'alimentation	1000	TDI = 0,044
	DINP	*	*	*	*
RIVM (2000)	DEHP	Vacuolisation des cellules de <i>Sertoli</i> (rats <i>SD</i>)	NOAEL = 3,7mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹ Par l'alimentation 13 semaines	1000	TDI = 0,004
	DINP	*	*	*	*
US EPA (1987)	DEHP	Augmentation du poids du foie (cochons d'Inde)	LOAEL = 19mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹ Par l'alimentation 1 an	1000	RfD = 0,02
	DINP	*	*	*	*
EFSA (2005)	DEHP	Reproduction : Toxicité testiculaire et toxicité du développement (rats <i>SD</i>)	NOAEL = 5mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹ Par l'alimentation 3 générations	100	TDI = 0,05
	DINP	Foie et reins (rat)	NOAEL = 15mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹	1000	TDI = 0,15
OMS (2003)	DEHP	Prolifération peroxysomale (foie)	NOAEL = 2,5 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹	100	TDI = 0,025
	DINP	*	*	*	*

*données non disponibles ou non accessibles

ATSDR (*Agency for Toxic Substances and Disease Registry- USA*)

MRLc chronic Minimal Risk Level (niveaux de risque minimaux)

SD Rat Sprague dawley®

CHAPITRE V. EVALUATION DE L'EXPOSITION DES ENFANTS MOINS DE 36 MOIS AUX PHTALATES VIA LES JOUETS

IV.6. CARACTERISATION DU RISQUE

La caractérisation des risques, consiste à calculer le niveau de risques attendu dans une population compte tenu de son exposition et de la toxicité de la substance mise en cause. Elle se fait en fonction du type d'effet retenu. On parle du quotient de danger (QD) pour les substances présentant un seuil de dose (appelé également l'indice de risque ou Hazard indice (HI) en anglais) [3, 41].

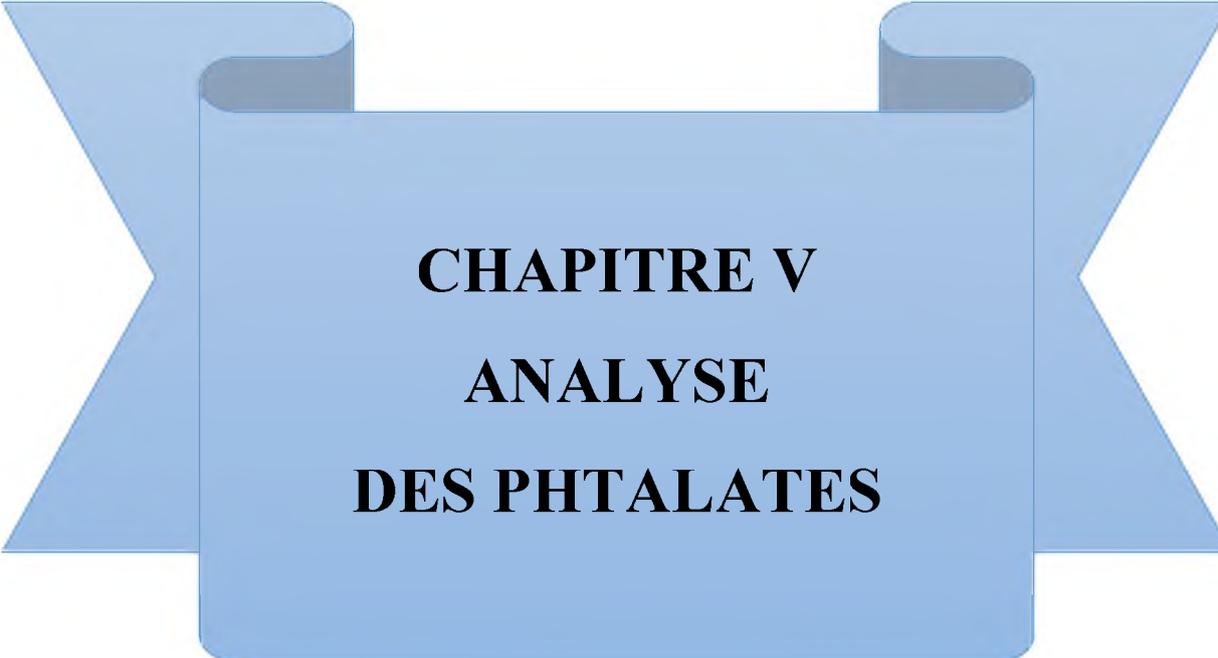
Le niveau de risque est alors exprimé par le QD qui est le rapport entre la dose journalière d'exposition et la VTR appropriée [3].

La valeur numérique de ce rapport permet de savoir si la dose reçue, dépasse ou non la VTR :

$$\mathbf{QD = DJE/VTR}$$

Le résultat du calcul de QD s'interprète comme suit :

un QD supérieur à 1 signifie que l'effet toxique peut se déclarer, sans qu'il soit possible d'en prédire la probabilité de survenue, alors qu'un QD inférieur à 1 signifie qu'aucun effet toxique n'est théoriquement attendu dans la population exposée [3, 20].



CHAPITRE V
ANALYSE
DES PHTALATES

CHAPITRE V. ANALYSE DES PHTALATES

L'évolution de la préparation des échantillons pour l'analyse des phtalates a été axée sur la rapidité, la simplicité, l'automatisation, la manipulation réduite des échantillons, le faible volume de solvant, l'utilisation d'un agent d'extraction vert dans le but de réduire le risque de contamination croisée par les solvants, les échantillons et la verrerie, ainsi que sur le respect de l'environnement [21].

Les techniques d'extraction les plus couramment utilisées pour la mesure des phtalates sont l'extraction liquide-liquide (LLE) et la microextraction en phase solide (SPME).

Quoi qu'il en soit, la SPME présente plusieurs avantages par rapport à la LLE, notamment l'absence de solvant, la facilité d'utilisation et la possibilité d'échantillonner, d'extraire, de purifier, de concentrer et d'injecter les substances en une seule procédure.

En ce qui concerne les approches analytiques, la chromatographie en phase gazeuse (GC) couplée à la spectrométrie de masse (MS) est la plus utilisée pour la quantification des phtalates. Des résultats satisfaisants en termes de rendement, de précision, de limites de détection et de limites de quantification ont été obtenus pour démontrer le succès de la GC-MS dans l'analyse des phtalates [21].

V.1. PREPARATION DE L'ECHANTILLON

Une attention particulière doit être accordée à l'étape de préparation de l'échantillon car celui-ci peut certainement être contaminé par du matériel de laboratoire tel que des solvants, des consommables en plastique, de la verrerie, de l'air de laboratoire, des barres d'agitation [21, 206]. Cette contamination croisée entraîne une surestimation des niveaux de contamination et/ou des faux positifs. Par conséquent, pour surmonter les problèmes de contamination, l'étape de préparation de l'échantillon, ainsi que les quantités de solvant, la verrerie, le temps d'extraction et l'exposition de l'échantillon à l'air, doivent être réduits au minimum [206].

Certaines études ont été réalisées pour réduire le niveau de contamination du matériel de laboratoire [207, 208]. Reid et *al.* [207] ont effectué une analyse du matériel et des composants de laboratoire courants, et les résultats ont indiqué que les seringues en plastique et les embouts de pipette produisaient une lixiviation maximale de $0,36\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de DEHP et de $0,86\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de DINP, que les porte-filtres en plastique libéraient une lixiviation maximale de $2,49\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de DBP à partir de polytétrafluoroéthylène (PTFE) et que le Parafilm[®] produisait des niveaux de lixiviation allant jusqu'à $0,50\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de DEHP. Pour réduire les niveaux élevés de phtalates dans ces matériaux, un processus thermique ou à haute température a été appliqué car il n'y a pas de liaison covalente entre les phtalates et les plastiques. Tienpont et *al.* [209] ont vérifié que les cartouches SPE en polypropylène contenaient 3 à 14ng de DIBP, DBP et DEHP et, pour réduire cette contamination, ont conseillé

CHAPITRE V. ANALYSE DES PHTALATES

de laver les cartouches SPE avec un solvant organique. Guo et *al.* [210] ont mesuré la concentration des phtalates dans l'alumine, le Florisil et le sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4), et le DIBP et le DEHP ont été trouvés à l'état de traces (ng/g) dans l'alumine et le Na_2SO_4 . Ces auteurs ont également mesuré la concentration des PAE dans les solvants commerciaux (par ex, hexane, acétone, dichlorométhane et acetonitrile), à savoir le DEHP (0,28 à 6,39ng/mL) trouvé dans tous les solvants. La présence de ces PAE dans les solvants peut être réduite par redistillation et/ou par SPE [206, 210].

Les bouteilles de solvant doivent être bouchées pour éviter toute interaction avec l'air ambiant [206]. En ce qui concerne la verrerie, selon Fernández-González et *al.* [211], tout le matériel utilisé pour l'échantillonnage et la préparation des échantillons doit être en verre et doit être lavé en trempant le matériel dans une solution alcaline pendant 48h, rincé avec de l'eau purifiée, puis lavé délicatement avec du méthanol. Enfin, la verrerie doit être calcinée à 450 °C pendant une nuit.

En résumé, lors de la préparation des échantillons, les matières plastiques doivent être évitées, le matériel de laboratoire ne doit pas être exposé à l'air, la verrerie doit être sélectionnée avec soin, et le temps et la quantité de solvant nécessaire à la préparation des échantillons doivent être réduits au minimum [206, 210].

V.2. TECHNIQUES D'EXTRACTION

Des procédures efficaces de pré-concentration et de nettoyage sont nécessaires pour garantir la qualité des méthodes analytiques, en raison de la faible concentration prévisible de ces analytes dans les échantillons, ainsi que de la complexité des échantillons [206]. Il est possible d'observer que les techniques d'extraction les plus courantes utilisées pour extraire les phtalates des échantillons sont les LLE, SPE et Soxhlet [21].

Dans la procédure LLE, l'échantillon est mis en contact avec un solvant ayant une forte affinité avec les phtalates, suivi d'une séparation de phase causée par les propriétés du solvant, d'une centrifugation et de l'élimination de l'humidité par traitement au Na_2SO_4 [210]. En général, aucune procédure de nettoyage n'est nécessaire.

Les solvants les plus couramment utilisés dans la LLE sont le dichlorométhane, l'acétone, l'acetonitrile et les mélanges de solvants (hexane : acétone, hexane : ethyl acetate, dichlorométhane : acétone) [21]. Malgré la grande efficacité de la LLE pour extraire les phtalates de différents échantillons, qui se traduit par des taux de récupération de 70 à 120%, des limites de détection et des limites de qualité inférieures, les tendances actuelles liées aux procédures d'extraction sont fondées sur les principes de la chimie verte, qui incluent de faibles volumes de solvants, la simplicité et la rapidité.

CHAPITRE V. ANALYSE DES PHTALATES

En ce sens, par rapport à la LLE, la microextraction liquide-liquide dispersive (DLLME) est plus simple, plus rapide et plus respectueuse de l'environnement, car elle ne nécessite que quelques litres de volume de solvant [21].

Contrairement à la LLE, au Soxhlet et à la SPE, la SPME comprend l'échantillonnage, l'extraction, la purification, la concentration et l'injection en une seule procédure.

Cette procédure d'extraction est sans solvant, ne nécessite pas de préparation préalable de l'échantillon et, par conséquent, le risque de contamination croisée par les solvants, les échantillons et la verrerie a été réduit [211].

La norme ISO 8124-6 (2018) relative à la sécurité des jouets, intitulée « Dosage de certains esters de phtalates dans les jouets et produits pour enfants » propose des méthodes d'extraction et d'analyse pour le dosage des phtalates dans les jouets [80].

Le principe général consiste à une extraction d'une partie du jouet au dichlorométhane avec un extracteur de Soxhlet, extraction par solvant ou extraction dans un bain ultrason avec le dichlorométhane [80].

V.3. APPROCHES ANALYTIQUES

La sélection des approches analytiques les plus appropriées pour séparer, détecter et identifier une classe de composés cibles dépend essentiellement de leurs propriétés physico-chimiques et de la sensibilité requise. Les approches analytiques les plus couramment utilisées pour la détermination des phtalates sont la chromatographie en phase gazeuse (GC) et la chromatographie en phase liquide (LC) combinées à la spectrométrie de masse (MS) [21].

V.3.1. Chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse est l'approche analytique la plus utilisée pour la détermination des phtalates [206]. Dans le cas des phtalates de poids moléculaire élevé, une étape de dérivation est nécessaire pour convertir les phtalates en leurs substances volatiles par le processus de méthylation ($-\text{COOCH}_3$) ou de silylation ($-\text{COOSiR}_3$) du groupe acide carboxylique [208].

En général, la séparation des phtalates est effectuée à l'aide de colonnes capillaires apolaires en silice fondue recouvertes de 5% de phényle et de 95% de diméthylpolysiloxane, dans des programmes de température allant de 60°C à 330°C, pour une durée totale d'analyse allant de 20 à 51min [21].

Traditionnellement, le détecteur à ionisation de flamme (FID) a été utilisé pour déterminer les phtalates, mais le FID a été remplacé par le détecteur MS en raison de sa spécificité et de sa haute sensibilité [21]. En ce qui concerne les techniques d'ionisation, l'ionisation électronique est la plus appropriée pour la détermination des phtalates par GC-MS, car elle est reproductible

CHAPITRE V. ANALYSE DES PHTALATES

et ne souffre pas d'effets de suppression d'ions. En outre, la chromatographie gazeuse-spectrométrie de masse en tandem (GC-MS/MS) et la GC-FID par évaporation des cendres ont également été explorées comme alternative pour déterminer les phtalates dans une diversité d'échantillons, avec d'excellents résultats [21]. La spectrométrie de masse en tandem, comparée à la spectrométrie de masse, a fait preuve d'une plus grande sensibilité, d'une plus grande précision de masse et d'une meilleure résolution.

En ce qui concerne l'analyseur, le quadripôle simple, le piège à ions et le triple quadripôle utilisant le balayage complet, le contrôle de l'ion unique (SIM) et le contrôle de la réaction multiple (MRM) sont les plus couramment utilisés [21]. La récupération, la précision, les limites de détection et les limites de qualité peuvent varier en fonction de la technique d'extraction appliquée et des approches analytiques [21].

Selon la norme ISO 8124-6 (2018) relative à la sécurité des jouets, intitulée « Dosage de certains esters de phtalates dans les jouets et produits pour enfants », la GC-MS est utilisée pour la détermination des phtalates avec un étalonnage interne ou externe [80].

V.3.2. Chromatographie liquide

La chromatographie liquide apparaît comme une alternative appropriée en raison de son potentiel dans l'analyse des composés thermiquement instables et non volatils, avec une sélectivité élevée [21].

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) utilisant des colonnes analytiques C₁₈ d'un diamètre interne (ID) de 4,6mm fonctionnant en élution isocratique ou en gradient avec un détecteur ultraviolet (UV) a été largement utilisée pour mesurer les phtalates. Bien qu'il ait été démontré que les détecteurs UV conviennent à la quantification des phtalates, ils ne fournissent pas d'informations structurales détaillées sur les composés cibles connus, ce qui constitue leur principal inconvénient [21]. La chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) [212, 213] a été étudiée comme alternative à la HPLC-UV et à la HPLC-DAD, car elle s'est révélée plus sensible, plus sélective, plus résolue et plus efficace. Récemment, la chromatographie liquide ultra-performante couplée à la spectrométrie de masse en tandem (UPLC-MS/MS) comparées à la LC-MS/MS ont le potentiel de séparer les phtalates dans un temps d'exécution plus court (14 à 16min) et d'utiliser des colonnes LC à particules plus petites, ce qui permet d'obtenir des pics plus étroits et un débit d'échantillons élevé [214].



**PARTIE
PRATIQUE**

Les jouets commercialisés dans l'Est Algérien ont montré la présence d'une forte concentration en métaux lourds et en métalloïdes. Aucune étude n'a été menée pour évaluer la concentration des phtalates type DEHP et DINP dans les jouets en plastique souple.

Il a donc été jugé impératif d'entreprendre une étude qui permettra de mesurer le taux de ces deux phtalates qui suscitent le plus d'inquiétude dans les jouets en PVC souple commercialisés sur le marché Algérien ainsi que d'évaluer l'exposition des enfants de moins de 36 mois suite à l'utilisation de ces jouets.

Sur la lumière de ces données les objectifs fixés pour cette étude sont :

3. Objectif principal :

Evaluation des niveaux d'exposition des enfants âgés de moins de 36 mois au DEHP et au DINP *via* les jouets neufs en PVC, commercialisés dans la région du Nord Algérien (Sétif, Constantine, Annaba, Bejaia, Alger et Oran).

4. Objectifs secondaires :

1. Mise au point et validation analytique d'une méthode de dosage de DEHP et DINP dans les jouets par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) ;
2. Détermination de la fréquence des jouets contenant le DEHP et/ou le DINP à une concentration dépassant la limite réglementaire adoptée dans l'UE, le Canada et les Etats-Unis (0,1%) ;
3. Etude de la corrélation entre la concentration de DEHP et de DINP dans le jouet et la migration *in vitro* dans un simulant de salive ;
4. Etude de la corrélation entre la concentration de DEHP et de DINP dans le jouet et la migration salivaire *in vivo* chez les sujets adultes volontaires ;
5. Comparaison des taux de migration salivaire de DEHP et de DINP *in vivo* et *in vitro*.

Afin d'atteindre ces objectifs, le travail pratique s'est déroulé en sept étapes dans l'ordre chronologique suivant :

Etape 01 : Identification de la nature chimique du polymère des jouets.

Etape 02 : Mise au point et optimisation d'une technique de dosage de DEHP et DINP dans les jouets en plastique.

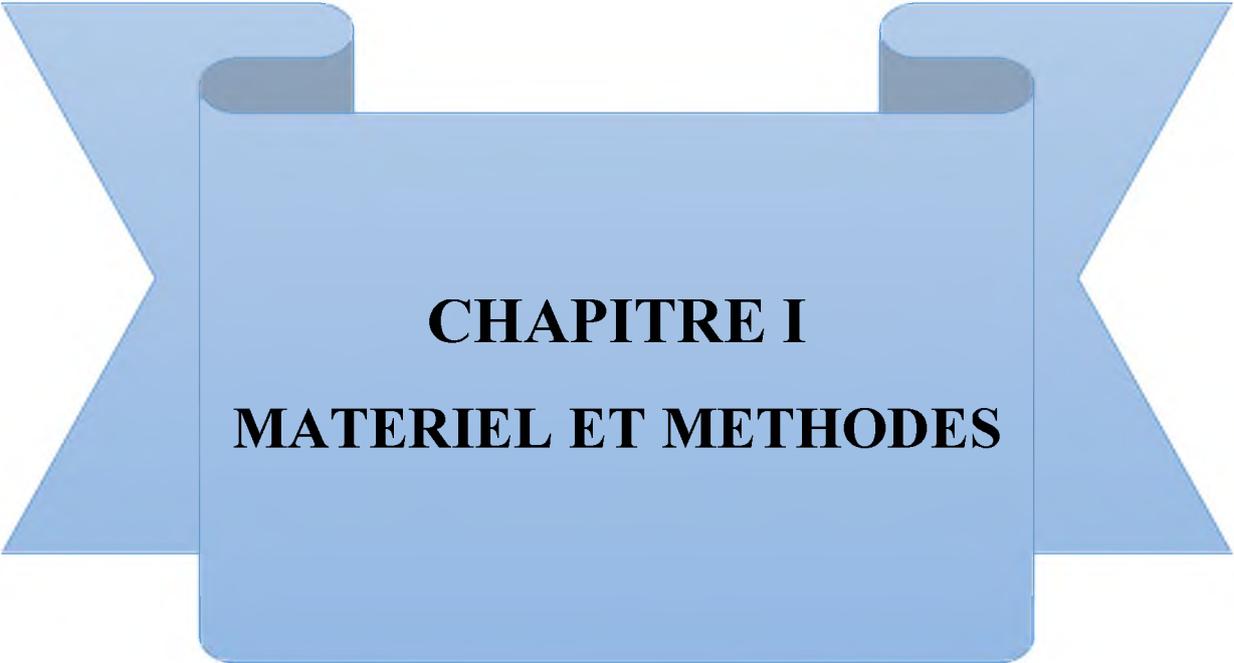
Etape 03 : Validation de la méthode de dosage des phtalates (DEHP, DINP) dans les jouets en plastique.

Etape 04 : Essai de composition pour déterminer la concentration de DEHP et de DINP dans les jouets en PVC.

Etape 05 : Essai de migration salivaire *in vitro* pour déterminer la fraction de phtalates (DEHP et/ou DINP) qui migre à partir de jouets dans un simulant de salive artificielle.

Etape 06 : Essai de migration salivaire *in vivo* pour déterminer la fraction de phtalates (DEHP et/ou DINP) qui migre à partir de jouets vers la salive chez des adultes volontaires sains.

Etape 07 : Evaluation de l'exposition des enfants de moins de 36 mois aux DEHP et DINP *via* les jouets en plastique type PVC et caractérisation des risques.



CHAPITRE I
MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

I.1. ZONE DE L'ÉTUDE

Nous avons sélectionné comme zone d'étude six wilayas de la région du Nord Algérien (Sétif, Constantine, Annaba, Bejaia, Alger et Oran) (Figure 16).



Figure 16. Présentation de la zone d'étude.

La sélection de cette zone a été justifiée par le fait que :

1. Selon l'office national des statistiques (ONS), la répartition régionale des entités économiques indique que près de deux tiers sont concentrées au niveau de la région nord du pays avec prédominance du secteur commercial [215].
2. Les six wilayas du nord Algérien (Sétif, Constantine, Annaba, Bejaia, Alger et Oran) constituent un pôle de commerce d'excellence d'une manière générale au niveau national ;
3. Le lieu de notre exercice qui nous a permis un déplacement plus fluide pour pouvoir sillonner la région Nord-Est et effectuer notre échantillonnage ;

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

4. La wilaya de Sétif, de par sa situation géographique, est considérée comme carrefour entre l'Est et l'Ouest, le Nord de l'Algérie.
5. En termes du commerce des jouets c'est les wilayas de Sétif, de Constantine et d'Annaba qui occupent la première place avec un taux de 0,74% (soit 100 entités commerciales) et 0,65% du total de l'activité commerciale de chaque wilaya (données de la Chambre du Commerce Régionale de Sétif) [11].

I.2. TYPE DE L'ÉTUDE

Il s'agit d'une étude transversale expérimentale qui porte sur l'évaluation de l'exposition des enfants aux phtalates type DEHP et DINP à partir des jouets en PVC commercialisés dans la région du Nord algérien (Annaba, Constantine, Alger, Bejaia, Sétif et Oran).

I.3. ÉCHANTILLONAGE

I.3.1. Type d'échantillonnage

Notre échantillon est non probabiliste car chaque élément de la population n'a pas une chance égale d'être choisi (marché Algérien des jouets n'est pas connu et absence de base de sondage exhaustive), par convenance et raisonné par jugement [216].

I.3.2. Taille de l'échantillon

Nous avons opté pour 271 jouets en plastique neufs achetés sur les six wilayas précitées.

I.4. CRITÈRES D'INCLUSION ET DE NON INCLUSION

Afin de déterminer les critères d'inclusion et de non inclusion ; nous avons réalisé une enquête descriptive transversale non expérimentale, auprès des parents, originaires de trois wilayas (Bejaia, Sétif et Constantine). Notre échantillonnage était non probabiliste, par convenance.

Le recueil des informations a été fait en prospective sur une durée de 3 mois (du 01/03/2021 au 31/05/2021).

L'objectif était de déterminer les caractéristiques des jouets achetés pour les enfants en particulier le matériau, le lieu d'achat, le prix des jouets et la vérification de l'âge auquel le jouet est destiné.

Pour atteindre cet objectif, nous avons adopté un questionnaire d'administration directe face à face, avec les parents avec une structure en entonnoir (Annexe 3).

Les questions ont été traduites et posés en langue vernaculaire face à face avec les parents (crèches, rues, services de pédiatrie, marchés, *etc.*). Les enquêteurs ont suivis les mêmes instructions quant à la formulation verbale des questions. Le temps de l'interrogatoire était

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

en moyenne de 8min.

Le questionnaire contient 17 items :

- Huit items fermées : trois items à choix dichotomiques / cinq items à choix multiples ;
- Quatre items ouvertes : l'utilisation des questions ouvertes ont permis d'avoir des réponses riches en informations. C'est une démarche exploratoire afin de faire des découvertes ;
- Cinq items mixtes : la question mixte est utilisée lorsqu'on souhaite proposer une liste de réponses aux répondants avec la possibilité de répondre librement à la question. Il s'agit de la case « autre ». La question mixte est utilisée lorsqu'il est important de ne pas négliger des nuances difficilement cernables, ou pour alléger la liste des réponses.

Les données ont été saisies et traitées statistiquement en utilisant le logiciel IBM SPSS STATISTICS version 25 et Microsoft office Excel 2013.

Au total 400 parents ont été interrogés. Les parents inclus dans cette étude sont répartis sur les trois régions où l'enquête a été déroulée. La majorité était originaire de Bejaïa avec un pourcentage de 87,25% (soit 349) suivie par Constantine avec 7% (28) et une minorité de Sétif avec 5,75% (23).

Suite à l'analyse et au traitement des données sur la répartition des jouets en fonction du matériau, il a été constaté que 93% des parents interrogés (soit 372) achètent des jouets en plastique. En revanche, une minorité de 7% (28) opte pour des jouets fabriqués à partir d'autres matériaux.

La majorité des parents, soit 76,5%, préfèrent acheter des jouets pour leurs enfants dans des magasins spécialisés en jouets. Les parents qui optent pour les marchés représentent 20,75% de l'échantillon. Une minorité, soit 10,5% des parents interrogés, choisissent d'acheter des jouets en ligne.

La plupart des parents optent pour l'achat de jouets dont le prix se situe entre 300 et 1000DA, représentant 58,5% de l'échantillon (234 parents). Ensuite, 29% des parents (116) choisissent d'acquérir des jouets dont le coût dépasse les 1000DA, tandis qu'une minorité, soit 12,5% (50 parents), préfère des jouets dont le prix est inférieur à 300DA.

Plus de trois quarts des parents, soit 76% (305 parents), ne vérifient pas l'âge auquel le jouet est destiné, tandis qu'une minorité de 24% (95 parents) effectuent cette vérification.

À la lumière de ce qui a été évoqué, nous avons fixé les critères d'inclusion et de non inclusion.

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

I.4.1. Critères d'inclusion

- Jouets neufs ;
- Jouets en plastique souples au toucher ;
- Prix de jouet inférieur à 1000DA ;
- Jouets appartenant à différentes catégories, destinés aux garçons ou filles (Poupées, voitures, animaux, figurines, ballons, *etc.*) ;
- Jouets destinés aux enfants de bas âge, sans prendre en considération la mention < 36 mois sur l'emballage car 76% ne donne pas importance à cette mention lors de l'achat ;
- Jouets achetés des magasins de gros qui assurent l'approvisionnement d'autres magasins de jouets ;
- Jouets achetés des magasins de détails spécialisés dans la vente des jouets et articles pour enfants exclusivement localisés dans les secteurs d'activité socioéconomique élevée (magasins localisés dans les supermarchés, les grandes surfaces et les zones dont l'activité de commerce est importante).

I.4.2. Critères de non inclusion

- Jouets appartenant à la catégorie des jeux de société et jeux électroniques, qui peuvent être vendu aussi bien aux adultes qu'aux enfants ;
- Jouets usés ;
- Jouets en matière autre que le plastique souple ;
- Jouets dont le prix est supérieur à 1000DA ;
- Jouets achetés des magasins dont l'activité principale est autre que la vente des jouets (librairie, magasin des produits cosmétiques, magasin agro-alimentaire, *etc.*) ;
- Jouets achetés des magasins localisés dans des zones isolés où l'activité socioéconomique est faible.

Les jouets sélectionnés sont représentés dans l'annexe 4.

I.5. CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

Les échantillons ont été rapportés au niveau du laboratoire de recherche de biopharmacie et pharmacotechnie (LBP) - unité de toxicologie - Département de pharmacie de la faculté de médecine de l'université Ferhat Abbes 1 - Sétif.

Les jouets sélectionnés ont été placés dans des sacs en plastiques propres en polyéthylène et étiquetés. L'étiquetage a pris en considération :

- La provenance (S pour Sétif, C pour Constantine, A pour Annaba, Al pour Alger, B pour Bejaia et O pour Oran) ;
- Un numéro de série dans la même sélection.

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

Après les essais de composition, les jouets ont été conditionnés dans des sachets en plastique transparent en PE puis placés sur une paillasse de laboratoire dans des boîtes opaques, à température ambiante, dans l'attente de la réalisation des essais de migration.

I.6. SAISIE DES DONNÉES

Une fiche de saisie de données (feuille Excel) a été élaborée pour servir de support au recueil des informations en rapport avec les jouets.

Pour chaque jouet les caractéristiques suivantes ont été rapportées :

- Numéro de l'échantillon ;
- Wilaya de provenance ;
- Type de jouets ;
- Pays d'origine ;
- Prix d'achat ;
- Paramètres étudiés.

I.7. REACTIFS, MATERIEL ET APPAREILLAGE

I.7.1. Réactifs

- Acetone.
- Acide chlorhydrique HCl (Sigma-Aldrich. 07102-2,5L-GL, lot # SZBE1990V).
- Acide nitrique HNO₃ (Fluka. 30709-2,5L-GL, lot # I345S).
- Benzoate de benzyle (C₁₄H₁₂O₂, BB), qualité analytique. CAS n° 120-51-4, de marque D^f. Ehrenstorfer GmbH™, Lot : G 999091, 0,5 g, 99,84% (g/g).
- Carbonate de potassium K₂CO₃ (BIOCHEM, Chemopharma. 500g).
- Chlorure de calcium CaCl₂ (AnalaR NORMAPUR. 1kg).
- Chlorure de magnésium MgCl₂ (BIOCHEM, Chemopharma. 500g).
- Chlorure de potassium KCl (BIOCHEM, Chemopharma. 1kg).
- Chlorure de sodium NaCl (BIOCHEM, Chemopharma. 1kg).
- Hydrogénophosphate de dipotassium K₂HPO₄ (Sigma-Aldrich. 04248-1kg, lot#SZBC1780V).
- Matériel de référence certifié (MRC-esters de phtalate dans des pastilles de résine PVC-NMIJ CRM 8152-b) (Annexe 5).
- n-hexane C₆H₁₄ (Sigma-Aldrich. Grade GC. 32293-2,5L-M, lot#STBH1726).
- Phtalate de di-(2-éthylhexyle) (C₂₄H₃₈O₄, DEHP), n° CAS 117-81-7, qualité analytique, de marque D^f. Ehrenstorfer GmbH™, Lot : G991529, 0,5 g, 99,71% (g/g).
- Phtalate de di-*iso*-nonyle (C₂₆H₄₂O₄, DINP), n° CAS 68515-48-0, analytique grade ou supérieur. D^f. Ehrenstorfer GmbH™, Lot : 986896, 0,25 g, 99,9% (g/g).
- PVC en poudre (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Numéro CAS : 9002-86-2. 81388-250G).

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

- Sulfate de sodium anhydre Na₂SO₄ (BIOCHEM, Chemopharma. 500g).
- Tétrahydrofurane (C₄H₈O, THF), grade GC.

I.7.2. Matériels

- Agitateur (FALC-MIX).
- Ampoule à décanter.
- Balance analytique (OHAUS, 0,001g de précision).
- Bain ultrason (Labtech, 3L).
- Bec Bunsen.
- Bistouri.
- Centrifugeuse (Centrifuge-CL008-5000 +/- 500g).
- Ciseau.
- Etuve (Memmert).
- Evaporateur rotatif (BUCHI – Rotavapor R-210).
- Fil de cuivre.
- Filtre à membrane en polytétrafluoroéthylène (PTFE), taille des pores de 0,45µm/0,22µm.
- Fioles jaugées : 1mL, 5mL, 10mL, 25mL, 50mL et 100mL.
- Flacon en verre de 250 mL.
- Micropipettes : 100-1000µL et 10-100µL.
- pHmètre (WTW - InoLab pH 7310).
- Pipettes : 1mL, 2mL, 5mL et 10mL.
- Tubes en verre scellables avec revêtement PTFE, volume 25mL.

I.7.3. Appareillage

a. Spectromètre IR-FTIR (FTIR - 8400S - SHIMADZU)

Cette méthode est basée sur l'interférence du rayonnement entre deux faisceaux pour produire un interférogramme, c'est-à-dire un signal produit en fonction de la variation de la longueur du trajet entre les deux faisceaux. Les deux domaines de distance et de fréquence sont interconvertibles par la méthode mathématique de la transformation de Fourier [217].

La transformation de Fourier est une procédure de décodage par laquelle le signal est converti du domaine temporel, où le signal est une fonction du retard, au domaine fréquentiel, où il est une fonction de la fréquence [218].

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES



Figure 17. Spectromètre IR à transformée de Fourier (FTIR - 8400S - SHIMADZU).

b. Spectromètre IR-ATR (IRAffinity – 1S – SHIMADZU)

La technique ATR ne nécessite pratiquement aucune préparation de l'échantillon. Elle permet des mesures rapides et robustes d'échantillons solides et liquides, y compris les pâtes et les échantillons difficiles à manipuler [219].



Figure 18. Spectromètre IR à réflexion totale atténuée (ATR - IRAffinity - 1S - SHIMADZU).

Dans notre pratique ; l'IR-ATR a été utilisé pour l'analyse des échantillons de couleur dense dont le spectre IR-FTIR était difficile à interpréter ou pour les échantillons avec lesquels l'obtention d'un film fin homogène et transparent était difficile.

c. GC-MS SHIMADZU-NEXIS GC 2030-GCMS QP 2020 NX- auto-injecteur SHIMADZU AOC-20i plus

Un système GC-MS de marque SHIMADZU-NEXIS GC 2030-GCMS QP 2020 NX avec un analyseur quadripôle et ionisation par impact d'électron a été utilisée pour le dosage des phtalates type DEHP et DINP dans les jouets en plastique (PVC) commercialisés dans la région Nord de l'Algérie. La GC-MS utilisée est dotée d'un auto-injecteur (auto-sampler)

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

de marque SHIMADZU AOC-20i plus. Une colonne capillaire Rxi[®]-5MS (30m x 0,25mm DI x 0,25µm) a été utilisée pour l'analyse des phtalates (Figure 19).



**Figure 19. GC-MS SHIMADZU-NEXIS GC 2030-GCMS
QP 2020 NX- auto-injecteur SHIMADZU AOC-20i plus.**

I.8. PARAMÈTRES ÉTUDIÉS

I.8.1. Identification de la nature chimique du polymère

a. Principe

La nature chimique du polymère des jouets sélectionnés a été identifiée par le test de Beilstein (appelé aussi le test de flamme) et confirmée par spectroscopie infrarouge (IR).

Le test de flamme est un test non spécifique permettant de détecter les ions chlorures dans les produits. La présence de ces ions peut permettre d'écarter les jouets dont la nature est différente du PVC [218].

Tous les jouets inclus dans notre étude ont subi un test de flamme.

La spectroscopie IR est une méthode de confirmation qui a été utilisée pour confirmer les résultats positifs obtenus avec le test de flamme.

Le test de flamme a été effectué au niveau de l'unité de toxicologie de laboratoire de recherche LBP. L'analyse IR a été réalisée au niveau de laboratoire de chimie analytique du département de pharmacie de Sétif (IR à transformée de Fourier IR-FTIR) et au niveau de laboratoire de recherche du département de génie des procédés de l'université Ferhat Abbes 1-Sétif (IR à réflexion totale atténuée IR-ATR).

a1. Test de flamme (Test de Beilstein)

Le chauffage d'un échantillon du polymère peut fournir un certain nombre d'approches préliminaires pour l'analyse. Les tests de flamme peuvent être utilisés pour différencier

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

les polymères, car la flamme produite par un polymère brûlant présente des différences caractéristiques dépendant de la structure de la matière [218].

Le test Beilstein est utilisé depuis plusieurs dizaines d'années pour l'analyse des matériaux organiques et polymériques. Il a été recommandé pour la détection du PVC dans les produits [220].

Ce test est fondé sur la réaction du chlore en présence de composés du cuivre, à des températures élevées comme celles que produit la flamme des brûleurs ; cette réaction a pour effet de produire des atomes ou des ions de cuivre excités (cuivre en présence des ions des chlorures donne une couleur vert brillant), qui confèrent à la flamme normalement incolore (ou à peine bleutée) une coloration vert brillant (ou parfois bleu-vert) [16, 27, 218, 220].

a2. Analyse IR

La nature chimique du polymère type PVC a été confirmée par la spectroscopie IR. L'analyse IR est une méthode populaire pour caractériser les polymères. C'est une technique vibrationnelle dans laquelle les bandes d'absorption à des longueurs d'onde spécifiques permettent l'identification de groupements fonctionnels spécifiques dans la structure du polymère [218, 221].

Dans les résultats de mesure du PVC souple, les pics aux alentours de 1425cm^{-1} , 959cm^{-1} et 610cm^{-1} sont des pics spécifiques du PVC. Dans certains cas la vérification est effectuée en utilisant la vibration d'étirement C - Cl près de 610cm^{-1} [222].

La figure 20 montre le spectre IR spécifique du PVC.

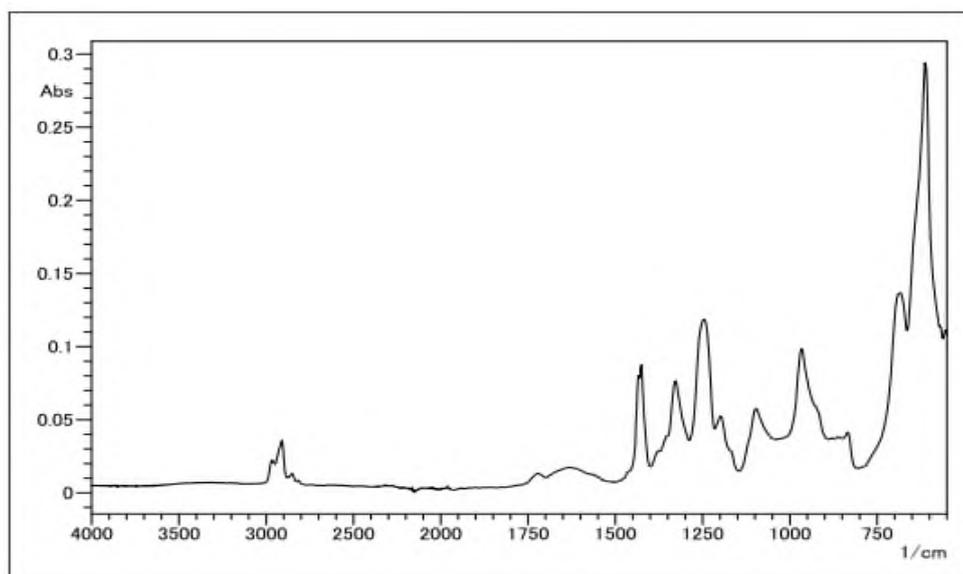


Figure 20. Spectre IR spécifique du PVC [218].

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

b. Partie expérimentale

b1. Test de flamme

- Dans la flamme d'un bec Bunsen, chauffer au rouge un fil de cuivre assez gros pour ne pas fondre trop rapidement. Continuer à chauffer le fil jusqu'à ce que toute couleur (sauf celle de la flamme du bec, légèrement bleutée et à peine visible) ait disparu. La flamme ne devrait présenter aucune coloration verte ;
- En plongeant de temps à autre le fil dans une solution d'eau et d'acide nitrique (10%), on parvient en général à éliminer les éléments qui causent la coloration indésirable. Si cette opération s'avère infructueuse, utiliser un autre fil ;
- Une fois le fil nettoyé, on doit s'abstenir de le toucher du doigt et s'assurer que le seul objet avec lequel il peut se trouver en contact est le matériau soumis à un essai ;
- Le test ne doit avoir lieu que lorsque la flamme est parfaitement incolore. Il vaut mieux effectuer le test sous un éclairage réduit afin de bien distinguer la couleur de la flamme ;
- Une fois le fil de cuivre chauffé au rouge, le mettre rapidement en contact avec un petit morceau de jouet plastique et remettre à nouveau le fil immédiatement dans la flamme. Si la flamme se teinte de vert (ou parfois bleu-vert), c'est que le jouet testé contient du chlore [16, 27, 218, 220].

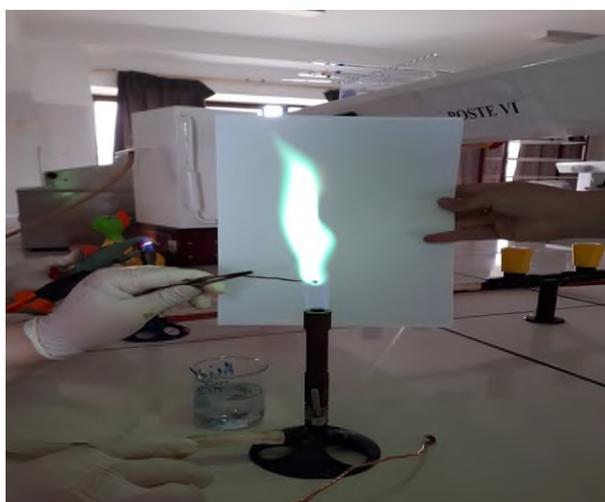


Figure 21. Test de flamme positif avec HCl.

b2. Analyse IR

1. Préparation du blanc en IR-FTIR

- L'analyse en IR FTIR nécessite la préparation de pastille de bromure de potassium (KBr) transparent en IR ;

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

- Les cristaux du KBr doivent être séchés auparavant dans une étuve à 60°C puis broyés afin d'obtenir une poudre très fine et homogène ;
- Nous avons préparé la pastille en remplissant uniformément la matrice. La pastille doit être transparente et uniforme ;
- Nous avons appliqué une pression de 80 bar à l'aide d'une presse hydraulique ;
- Nous avons récupéré la pastille et nous avons lancé l'analyse IR-FTIR.



Figure 22. Matrice à presse hydraulique pour la preparation des pastilles.



Figure 23. Presse hydraulique.

2. Préparation du PVC étalon

- Nous avons broyé le PVC étalon poudre avec du KBr pour diluer à 1/10 ;
- Nous avons suivi les mêmes étapes pour préparer les pastilles transparentes et uniformes.

3. Préparation et analyse des jouets en plastique

Il existe un certain nombre de méthodes pour examiner les échantillons de polymères. Si le polymère est un thermoplastique, il peut être ramolli par chauffage et pressé en un film

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

mince à l'aide d'une presse hydraulique. On peut également dissoudre le polymère dans un solvant volatil et laisser la solution s'évaporer en un film mince sur une plaque d'halogénure alcalin. Certains polymères, comme les caoutchoucs synthétiques réticulés, peuvent être microtomisés [218].

Dans notre pratique, l'analyse des jouets a impliqué la préparation d'un film transparent par découpage de fines tranches avec des bistouris.



Figure 24. Films préparés pour l'analyse IR.

c. Calcul des résultats

Nous avons calculé la fréquence relative des jouets en PVC par rapport à l'ensemble des jouets analysé (n=271).

La fréquence relative est le rapport entre l'effectif d'une modalité de la variable étudiée et l'effectif total de la population ou plus généralement de l'échantillon sur lequel cette variable est mesurée [216].

La spécificité du test de flamme a été calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Spécificité} = \text{VN} / (\text{VN} + \text{FP}) \text{ [223]}$$

VN : Vrais Négatifs, FP : Faux Positifs.

I.8.2 mise au point et optimisation d'une technique de dosage de DEHP et DINP dans les jouets en plastique

Nous nous sommes référenciés à la méthode CPSC-CH-C1001-09.3, une procédure opératoire normalisée pour la détermination des phtalates par CPSC (Commission de la sécurité des produits de consommation aux Etats-Unis-2010) pour la mise au point analytique du dosage des deux phtalates ciblés (DEHP et DINP) par CG-SM [224].

Le document fournit des informations détaillées sur les méthodes de test qui seront utilisées par les laboratoires d'essais de la CPSC aux États-Unis pour l'analyse de la teneur en phtalates des jouets pour enfants et des articles de puériculture.

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

L'approche générale consiste à dissoudre complètement l'échantillon dans du tétrahydrofurane (THF), à précipiter tout polymère de PVC avec de l'hexane, à filtrer puis à diluer la solution avec du n-hexane et à analyser par GC-MS.

Partant des conditions chromatographiques initiales présentées dans le tableau 16, nous avons désigné le temps de rétention (Tr) de DEHP, DINP et l'étalon interne (Benzyl benzoate BB), optimisé la température du four et les paramètres de la méthode masse.

Tableau 16. Conditions de GC-MS initiales.

Instrument		
GC-MS	SHIMADZU-NEXIS GC 2030-GCMS QP 2020 NX	
Auto-injecteur (auto-sampler)	SHIMADZU AOC-20i plus	
Colonne	Rxi [®] -5MS ; 30m x 0,25mm DI x 0,25µm	
Conditions analytiques		
GC		
Température de l'injecteur	290 °C	
Température du four	50° C (1min) - (30 °C/min) - 280 °C - (15 °C/min)- 310 °C (4min)	
Mode d'injection	Splitless	
Débit du gaz vecteur (He)	1mL/min, débit constant	
Volume d'injection	1µL	
Linear velocity	36,8cm/s	
Purge Flow	3,0mL/min	
Temps mort du solvant (solvant cut time)	5min	
MS		
Température de la source	200°C	
Température de la ligne de transfert	310°C	
Aquisition mode	SCAN	
	Scan range	m/z 35-500
	Event time	0,30sec
	Scan speed	1666u/sec
Tuning Mode	Normal	

Le temps total de l'analyse GC- MS initial était de 14,67min.

a. Désignation du temps de rétention (Tr) et obtention des spectres de masse

Pour désigner le Tr des étalons (DEHP, DINP) et de l'étalon interne EI (Benzyl benzoate BB), nous avons injecté une solution EI à 1µg/mL préparé dans le n-hexane grade GC et un mélange de DEHP-DINP à une concentration de 11µg/mL et 55µg/mL successivement préparés dans le n-hexane grade GC également.

Ensuite, nous avons injecté un mélange de DEHP, DINP et BB à une concentration de 11µg/mL, 55µg/mL et 1µg/mL successivement préparé dans le n-hexane grade GC.

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

Les mélanges ont été analysés dans un premier temps à l'aide du mode de balayage complet (SCAN), afin de déterminer le Tr, avoir le chromatogramme correspondant à chaque molécule et les spectres de masse de BB, DEHP et DINP.

Une méthode SIM a été créée après l'obtention des chromatogrammes. Le mode SIM permet de surveiller les ions correspondants de chaque composé répertorié dans un segment de temps. Trois groupes SIM ont été créés, correspondants chacun à une molécule (groupe SIM 1 pour BB, Groupe SIM 2 pour DEHP et Groupe SIM 3 pour DINP).

Tableau 17. Paramètres de la méthode SIM.

	Tr estimée (minute)	Ions correspondants (m/z)
Groupe SIM 1	5 – 9,85	
BB (EI)	8,42	91, 105 , 194, 212
Groupe SIM 2	9,85 – 11,47	
DEHP	11,27	149, 167, 279
Groupe SIM 3	11,47- 13,83	
DINP	12,26	149, 127, 293

En gras, l'ion de quantification.

b. Optimisation des paramètres de la méthode GC et la méthode masse

Le temps mort du solvant a été fixé initialement à 5min, sachant que le Tr de BB, DEHP et de DINP est de 8,42min, 11,27min et 12,26min successivement, nous avons prolongé ce temps à 6min.

L'effet mémoire est défini par l'apparition d'un signal dans le blanc au Tr de la molécule d'intérêt après l'analyse d'un échantillon ou d'un standard de forte concentration, ce signal ne doit pas dépasser 20% de la limite de quantification inférieure [225].

Afin de vérifier l'effet mémoire des phtalates étudiés (DEHP et DINP), un blanc matrice a été analysé avant et après l'analyse d'une matrice chargée avec 11µg/mL DEHP et 55µg/mL DINP. Cette analyse a été répétée trois fois.

Les chromatogrammes obtenus avec les blancs matrices analysés après les matrices chargées avec 11µg/mL DEHP et 55µg/mL DINP ont montré la présence de signal provenant de résidus de phtalates, indiquant la présence d'effet mémoire.

Pour prévenir toute rétention des phtalates, une caractéristique inhérente à ces substances, dans la colonne et, par conséquent, éliminer l'effet mémoire, le dernier palier de température du programme thermique de la GC à 310°C a été prolongé à 7min au lieu de 4min. En conséquence, le temps d'analyse a augmenté de 14,67min à 17,67min.

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

Malgré l'extension du temps à 17,67min, l'effet mémoire de DEHP persistait. Par conséquent, le temps du dernier palier a été étendu à 10 minutes, portant ainsi le temps total d'analyse à 20,67min.

Avec ce programme thermique, tous les phtalates sont correctement éliminés de la colonne. En supprimant l'effet mémoire, la séquence des injections peut désormais être effectuée de manière aléatoire.

Vu la proximité des pics chromatographique de DEHP et DINP, les deux groupe SIM (SIM 2 et SIM 3) ont été fusionnés.

c. Détermination du rendement de l'extraction

Le rendement d'extraction absolu peut être obtenu par le rapport des signaux mesurés, d'une part après traitement de l'échantillon chargé avec une quantité connue et d'autre part après l'injection directe dans le système analytique d'une solution de référence contenant une concentration équivalente de substance à examiner [116-118].

Le rendement d'extraction absolu est un critère important pour les procédures nécessitant une extraction préalable du principe actif.

Dans la méthode de dosage des phtalates CPSC-CH-C1001-09.3 [224], l'extraction était totale car la dissolution est complète suite à l'ajout de THF et l'extraction par le bain ultrason. La période d'extraction de 30min (ou de 2h 30min en cas de dissolution incomplète) assure une solubilisation totale de l'échantillon et garantit une extraction à 100%.

Le rendement d'extraction a été vérifié en utilisant un matériel de référence certifié (MRC-esters de phtalate dans des pastilles de résine PVC-NMIJ CRM 8152-b).

Ce matériau de référence certifié est produit conformément au système de gestion du l'institut national de métrologie du Japon (NMIJ) et est conforme aux normes ISO 17034 et ISO/CEI 17025. Il est destiné à être utilisé pour contrôler la précision de l'analyse et pour valider les méthodes et instruments d'analyse lors de la quantification de phtalates dans la résine de PVC et matériaux similaires.

Les valeurs certifiées de ce MRC ont été basées sur les résultats analytiques des phtalates par chromatographie en phase gazeuse à dilution isotopique/ spectrométrie de masse (ID GC/MS). Dans notre pratique, le MRC a été soumis à une extraction puis une quantification trois fois successives.

d. Vérification de l'effet matrice

Afin d'étudier la variation de la réponse en fonction de la matrice, nous avons réalisé une extraction avec le THF sur une matrice PVC qui ne contiennent pas des phtalates.

Après extraction, nous avons dopé l'extrait ultrasonique avec les phtalates d'intérêt (DEHP

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

et DINP) et EI (BB) afin d'obtenir les concentrations finales suivantes :

DEHP (0,5, 5, 11 $\mu\text{g/mL}$), DINP (2,5, 25, 55 $\mu\text{g/mL}$) et EI (contraction finale 1 $\mu\text{g/mL}$).

La concentration de la solution d'EI était à 7,5 $\mu\text{g/ml}$, préparée dans le n-hexane. Le mélange DEHP/DINP avait une concentration initiale de 201,81304 $\mu\text{g/mL}$ pour l'étalon (E) de DEHP et de 1001,04795 $\mu\text{g/mL}$ pour le DINP, également préparée dans le n-hexane.

Le tableau 18 montre les différents volumes utilisés de chaque solution.

Tableau 18. Dopage de la matrice PVC pour la vérification de l'effet matrice.

C DEHP ($\mu\text{g/mL}$)	C DINP ($\mu\text{g/mL}$)	Volume du mélange DEHP-DINP (μL)	Volume EI (mL)	Volume n-hexane (mL)
0,5	2,5	37,5 μL	2mL	Compléter à 10mL avec le n-hexane
5	25	375 μL	2mL	
11	55	825 μL	2mL	

Les mêmes concentrations des phtalates (DEHP, DINP) et d'EI ont été directement préparées dans le n-hexane sans la matrice avec les mêmes solutions étalons. Le tableau 19 montre les différents volumes utilisés de chaque solution.

Tableau 19. Préparation des solutions sans la matrice PVC pour la vérification de l'effet matrice.

C DEHP ($\mu\text{g/mL}$)	C DINP ($\mu\text{g/mL}$)	Volume EI (μL)	Volume (μL) Mélange DEHP/DINP	Volume final (mL)
0,5	2,5	270	5	2
5	25	135	25	1
11	55	135	55	1

I.8.3. Validation de la méthode de dosage des phtalates (DEHP, DINP) dans les jouets en plastique

Nous avons adopté le protocole de validation rédigé par la commission SFSTP (2003-2006), qui propose de revoir les bases mêmes de la validation analytique pour une démarche harmonisée, en distinguant notamment les règles de diagnostic et les règles de décision [226-228].

Ces dernières reposent sur l'utilisation du profil d'exactitude, basé sur la notion d'erreur totale (biais et écart type), permettant de simplifier l'approche de la validation d'une procédure analytique tout en contrôlant le risque associé à son utilisation.

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

a. Pré-validation

a1. Sélectivité

Pour étudier la sélectivité de la méthode du dosage des phtalates (DEHP/DINP), nous avons analysé la matrice PVC qui ne contenait pas des phtalates (blanc matrice), nous avons suivi les différentes étapes de prétraitement et nous avons vérifié après analyse par CG-MS mode SCAN et SIM l'absence de molécule contenant un des ions d'identifications des molécules analysées (BB, DEHP et DINP) dans le temps de rétention fixé préalablement (8,42min pour BB, 11,27min pour DEHP et 12,26min pour DINP).

Nous avons refait cette opération 3 fois.

a2. Fonction de réponse (courbe d'étalonnage)

L'intervalle de dosage a été choisi de manière à ce qu'il comprenne les limites fixées par la réglementation internationale (0,1% poids/poids correspond à une concentration de 2,88µg/mL en phtalates).

La fonction de réponse a été déterminée en analysant six niveaux de concentrations différentes de DEHP (0,5, 1, 2, 5, 7, 11µg/mL) et de DINP (2,5, 5, 10, 25, 35, 55µg/mL). La concentration de l'EI était de 1µg/mL.

a3. Estimation de la limite de quantification et la limite de détection

Pour la détermination de la limite de quantification (LQ), nous avons adopté la méthode qui consiste à faire intervenir un facteur de risque de 10, qu'on doit multiplier par l'écart type de blanc (σ_{blanc}) [225].

$$LQ = 10 \times \sigma_{blanc}$$

Le calcul du seuil de détection (LD) fait intervenir un facteur multiplicateur, facteur de risque, qui est fixé par défaut à trois qu'on doit multiplier par l'écart type calculé à partir de n mesures d'un blanc [225].

$$LD = 3 \times \sigma_{blanc}$$

b. Validation analytique

Le tableau 20 présente, selon le protocole choisi, le nombre total d'essais à réaliser pour valider la procédure analytique concernée. Il est important d'insister sur le fait qu'il s'agit de protocoles minimaux construits en fonction de contraintes réglementaires.

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

Tableau 20. Choix du nombre de standards d'étalonnage et de validation en fonction du protocole choisi [227].

Standards	Niveau de concentration	Protocole				
		V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	V ₅
SE. Etalonnage sans la matrice	Bas		2		2	
	Médian	2	2 ⁽²⁾	2	2 ⁽²⁾	
	Haut	2 ⁽¹⁾	2	2 ⁽¹⁾	2	
SE. Etalonnage avec la matrice	Bas				2	2
	Médian			2	2 ⁽²⁾	2 ⁽²⁾
	Haut			2 ⁽¹⁾	2	2
	Additionnel					2 ⁽³⁾
SV. Validation avec la matrice	Bas	3	3	3	3	3
	Médian	3	3	3	3	3
	Haut	3	3	3	3	3
Nombre minimum séries		3	3	3	3	3
Nombre total essais (min)		33	45	39	63	45

⁽¹⁾ Sélection d'un niveau de concentration supérieure à la concentration cible pour l'étalonnage.

⁽²⁾ Suppression possible du niveau de concentration médian pour l'étalonnage sur la base du modèle de régression retenu pour exprimer la fonction de réponse.

⁽³⁾ Addition d'un niveau de concentration supplémentaire pour une fonction de réponse nécessitant un modèle plus complexe.

Dans notre travail, nous avons choisi le protocole de validation analytique (V₂), justifié par l'absence d'un effet matrice possible. Le nombre minimum de séries est de trois avec un nombre total d'essais de 45 comme illustré dans le tableau 26.

b1. Courbes des trois jours de validation

Dans notre protocole de validation de dosage des phtalates dans les jouets en PVC :

- Trois séries (trois jours) de mesures ont été réalisées ;
- Trois niveaux de concentration ont été choisis (LQ déterminée, C moyenne, C Limite de la courbe d'étalonnage). Les concentrations étaient de 0,5, 5, 11µg/mL pour DEHP et de 2,5, 25, 55µg/mL pour DINP ;
- Nous avons fait trois analyses par niveau ;
- Chaque niveau a été préparé deux fois par série pour la série d'étalonnage ;
- Chaque niveau a été préparé trois fois par série pour la série de validation.

b2. Linéarité

Les concentrations calculées doivent se faire sur la courbe d'étalonnage du jour même (série) et non pas sur la courbe moyenne des trois jours. On calculera ainsi un modèle d'étalonnage pour chaque jour et non pas un modèle globale.

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

b3. Exactitude

L'exactitude est l'expression de la somme de la justesse et de la fidélité.

1. La justesse (biais)

Les paramètres qui peuvent utiliser pour évaluer la justesse sont :

- Le recouvrement (R%) : par rapport aux concentrations introduites.

$$R(\%)_i = \frac{\hat{\mu}_i}{X_i} \times 100$$

- Le biais : absolu (B), relatif (B%)

$$B_i = \hat{\mu}_i - X_i \qquad B(\%)_i = \frac{\hat{\mu}_i - X_i}{X_i} \times 100$$

B_i Biais absolu.

$B(\%)_i$ Biais relatif.

$R(\%)_i$ Recouvrement.

X_i Concentration introduite.

μ_i Concentration calculée.

La limite d'acceptabilité : $\pm 15\%$.

- **Recouvrement et recouvrement moyen**

Sa valeur cible est de 100% (la concentration calculée est égale à la concentration introduite).

La limite d'acceptabilité est de 15% avec un intervalle de [85% -115%]

- **Biais absolu et biais relatif**

Sa valeur cible est de 0 (la concentration calculée est égale à la concentration introduite).

La limite d'acceptabilité : 15%.

2. Fidélité – Précision

La fidélité peut être évaluée à trois niveaux : la répétabilité, la fidélité intermédiaire (intra laboratoire) et la reproductibilité (inter laboratoire).

Les mesures quantitatives de la fidélité dépendent de façon critique des conditions stipulées.

Peuvent ainsi être distinguées les conditions de :

- Répétabilité

Conditions où les résultats d'essai indépendants sont obtenus par la même méthode sur des échantillons d'essai identiques dans le même laboratoire, par le même opérateur, utilisant le même équipement et pendant un court intervalle de temps ;

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

- Fidélité intermédiaire

Conditions où les résultats d'essai indépendants sont obtenus par la même méthode sur des échantillons d'essai identiques dans le même laboratoire, avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents et pendant un intervalle de temps donné ;

- Reproductibilité

Conditions où les résultats d'essai sont obtenus par la même méthode sur des échantillons d'essais identiques dans différents laboratoires, avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents.

Elle est exprimée en écart-type, et en coefficient de variation :

$$CV = \frac{\sigma}{\bar{\mu}} \times 100$$

σ Ecart-type

μ Concentration calculée

Les valeurs des coefficients de variation (CV) de la répétabilité et de la fidélité intermédiaire ne devraient pas excéder 15% pour les standards de validation.

b4. Sensibilité

Comme il s'agit d'une droite d'étalonnage, la sensibilité a été donnée directement par la pente de la droite. On parle de la sensibilité de la calibration.

b5. Profil d'exactitude

La commission SFSTP a proposé une approche globale pour obtenir un outil de décision appelé « profil d'exactitude » à la fois pratique et visuel. Il repose sur le calcul pour chaque niveau "i" de concentration, l'intervalle de tolérance à partir des estimations disponibles de la justesse et de la fidélité de la procédure après la phase de validation au niveau de la concentration en question.

I.8.4. Détermination des taux de phtalates (DEHP/ DINP) dans les jouets en pvc (essais de composition)

a. Principe

La méthode d'essai CPSC-CH-C1001-09.3 (Procédure opératoire normalisée pour la détermination des phtalates - 2010 [224]) a été adoptée pour le dosage de DEHP et de DINP dans les jouets en plastique dont la nature chimique PVC a été préalablement confirmée dans la première étape (test de flamme et IR) et dont la méthode analytique a été validée suivant le protocole SFSTP (2003-2006).

L'approche générale consiste à dissoudre complètement l'échantillon dans du THF, à précipiter

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

tout polymère de PVC avec de le n-hexane, à filtrer puis à diluer la solution avec du n-hexane et à analyser par GC-MS.

La GC-MS a été choisie pour la détermination des phtalates parce qu'elle est très spécifique et maintenant largement disponible dans les laboratoires de toxicologie [229]. On estime que la seule méthode d'analyse fiable est la GC-MS utilisant une colonne capillaire [230].

En utilisant l'analyse GC-MS avec des colonnes capillaires, une séparation très efficace des différents phtalates et isomères de phtalates peut être réalisée, même lorsque la structure moléculaire est presque identique [230].

La pratique a été réalisé au niveau de l'unité de toxicologie de laboratoire de recherche LBP- du département de Pharmacie de la faculté de Médecine de Sétif.

b. Partie expérimentale

b1. Préparations des solutions étalons

1. Nous avons préparé une solution mère de DEHP dans le n-hexane, avec une concentration de 8,77448mg/mL.
2. Nous avons préparé une solution mère de DINP dans le n-hexane, avec une concentration de 28,60137mg/mL.
3. Nous avons préparé une solution mère de l'EI dans le n-hexane avec une concentration de 14,656512mg/mL. Les solutions mères ont été conservées à 4°C, pour prévenir les fluctuations de la concentration. Il est recommandé de refaire la préparation chaque trois mois selon ISO 2018 [80].
4. A partir de la solution mère de l'EI (14,656512mg/mL), nous avons préparé extemporanément une solution fille à 1,0125mg/mL dans le n-hexane. A partir ce cette dernière solution fille nous avons préparé une concentration de 7,5µg/mL dans le n-hexane et qui a été utilisée pour le dosage des phtalates (DEHP et DINP).
5. A partir des deux solutions mères de DEHP et de DINP, nous avons préparé un mélange de DEHP et DINP ; la concentration finale de DEHP dans le mélange était de 200µg/ml (201,81304µg/mL concentration exacte) et la concentration finale de DINP était de 1000µg/ml (1001,04795µg/mL concentration exacte). Le n-hexane a été utilisé pour la dilution.

Pour chaque solution préparée, nous avons enregistré le poids des solutions avant et après utilisation pour surveiller l'évaporation du solvant (suivi de stabilité). Les étalons doivent être remplacés lorsque les données expérimentales démontrent une diminution de la qualité ou une perte significative du poids du solvant [224].

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

b2. Mesure de la concentration des phtalates type DEHP et DINP

La procédure du dosage des phtalates dans les jouets en PVC sélectionnés a été faite en suivant le protocole de CPSC-CH-C1001-09.3 (Procédure opératoire normalisée pour la détermination des phtalates - 2010 [224]). Les étapes de l'analyse ont été regroupées en 9 parties détaillées ci-dessous. Une attention particulière a été accordée au nettoyage de la verrerie vue le grand risque de contamination par les phtalates dans un laboratoire d'analyse.

1. Pré-crible (pré-sélection) d'échantillon à l'aide des résultats de la spectroscopie IR

Une estimation de la concentration de phtalate peut être obtenue en analysant l'échantillon à tester avec un spectromètre IR. Ces informations ont été utilisées lors du choix du facteur de dilution. Cette étape est facultative.

Un pic doublet à 1600 et 1580 cm^{-1} peut être observé lorsque le ou les phtalates sont présents en quantités d'environ 10% ou plus (Figure 25 et 26). Si ce doublet n'est pas observé, l'échantillon doit être traité comme contenant une faible concentration de phtalates. Si le doublet est présent, l'échantillon peut être traité comme concentré et un facteur de dilution plus élevé peut être utilisé. L'absence du pic doublet n'indique pas que les phtalates ne sont pas présents dans l'échantillon, et que le jouet est conforme [224].

Nous nous sommes basés sur les spectres IR-FTIR et IR-ATR obtenu dans l'étape de l'identification de la nature chimique du polymère des jouets sélectionnés dans le choix du choix du facteur de dilution.

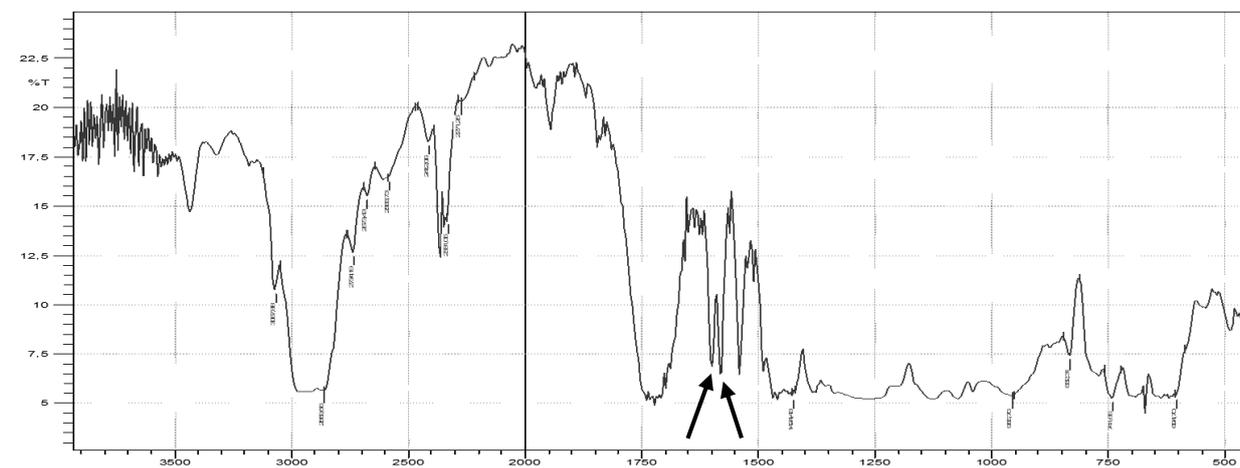


Figure 25. Spectre IR d'un jouet en PVC contenant environ 27,6% DEHP (A33).

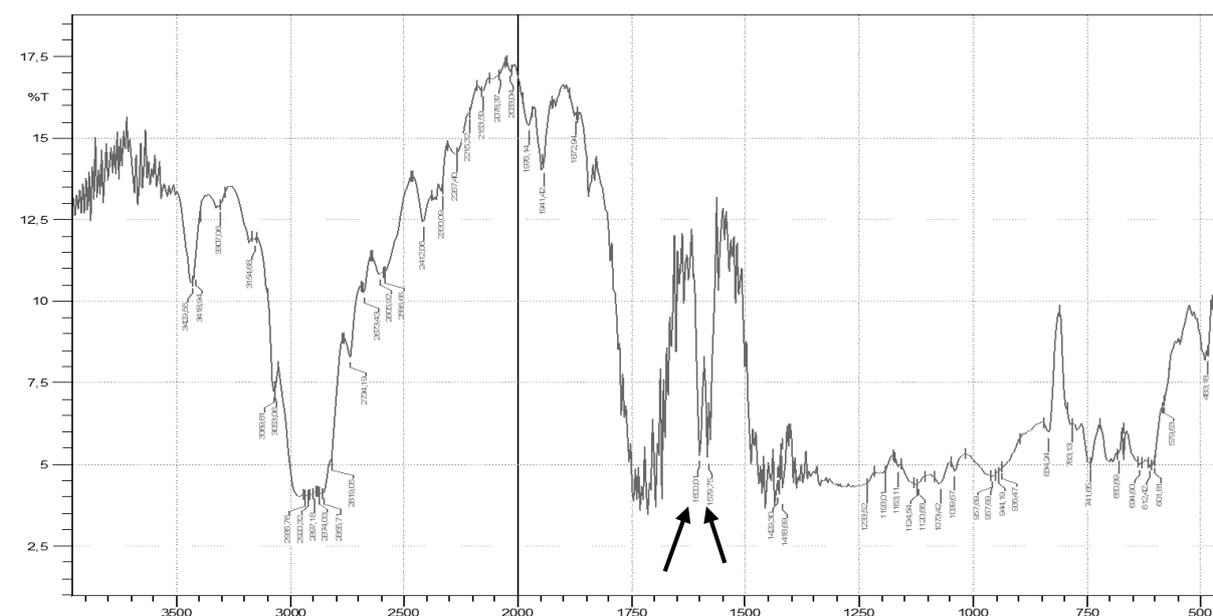


Figure 26. Spectre IR d'un jouet en PVC contenant 15,6% DEHP et 5,1% DINP (A44).

2. Préparation de l'échantillon

Chaque jouet en PVC a été découpé en petits morceaux à l'aide de ciseaux, ne dépassant pas 2 mm de dimension.

3. Extraction des phtalates

L'extraction des phtalates DEHP et DINP a été faite suivant ces étapes :

1. Peser un minimum de $0,05 \pm 0,005$ g d'échantillon dans un tube en verre scellable (pesé avec une précision de $\pm 0,5\%$ relatif).
2. Ajouter 5ml de THF à l'échantillon. Secouer et remuer. Chaque échantillon a été soniqué à 30 °C pendant 30min pour permettre la dissolution complète du polymère.

Pour les jouets qui n'ont pas subis une solubilisation complète, nous avons ajoutés 2h supplémentaires au temps de mélange.

3. Précipiter tout polymère de PVC avec 10mL d'hexane pour 5mL de THF utilisé dans l'étape (2). Secouer et laisser au moins 5min pour que le polymère se dépose (des temps plus longs peuvent être nécessaires pour minimiser le colmatage des filtres à l'étape suivante).
4. Filtrer la solution THF/hexane à travers un filtre PTFE de $0,45\mu\text{m}$. Recueillir quelques mL de solution filtrée dans un flacon séparé.
5. Mélanger $865\mu\text{L}$ de la solution THF/hexane avec $135\mu\text{L}$ d'étalon interne (BB, $7,5\mu\text{g/mL}$).

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

4. Analyse GC-MS

Les conditions analytiques déduites après la mise au point et l'optimisation de la technique adoptée pour le dosage de DEHP et DINP dans les jouets en plastique en PVC sont récapitulées dans le tableau 21.

Tableau 21. Récapitulatif des conditions finales de la GC-MS.

Instrument			
GC-MS		SHIMADZU-NEXIS GC 2030-GCMS QP 2020 NX	
Auto-injecteur (auto-sampler)		SHIMADZU AOC-20i plus	
Colonne		Rxi [®] -5MS ; 30m x 0,25mm DI x 0,25µm	
Conditions analytiques			
GC			
Température de l'injecteur		290 °C	
Température du four		50° C (1min) - (30 °C/min) - 280 °C - (15 °C/min)- 310 °C (10min)	
Mode d'injection		Splitless	
Débit du gaz vecteur (gaz He)		1mL/min, débit constant	
Volume d'injection		1µL	
Linear velocity		36,8cm/s	
Purge Flow		3,0mL/min	
Temps mort du solvant (solvant cut time)		6min	
MS			
Température de la source		200 °C	
Température de la ligne de transfert		310 °C	
Aquisition mode		Scan/SIM	
Scan		SIM	
Scan range	m/z 35-500	Monitoring Ions	voir tableau 22
Event time	0,30sec	Event Time	0,2sec
Scan speed	1666u/sec		
Tuning Mode		Normal	

Tableau 22. Paramètres SIM.

	Tr estimée (minute)	Ions correspondants (m/z)
Groupe SIM 1	6 – 9,85	
BB (EI)	8,42	91, 105 , 194, 212
Groupe SIM 2	9,85 – 14,25	
DEHP	11,27	149, 167, 279
DINP	12,26	149, 127, 293

En gras, l'ion de quantification.

Le temps total de l'analyse GC - MS était de 20,67min.

Les échantillons ont été analysés à l'aide du mode de balayage complet et du programme SIM répertorié dans le tableau 22.

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

Les résultats de l'analyse complète ont été évalués qualitativement. Les phtalates d'intérêt ont été identifiés par appariement avec les temps de rétention et les spectres de masse et les intensités relatives des ions d'identification de la solution à analyser et de la solution d'étalonnage [80].

Le composé cible est considéré comme identifié dans la solution à analyser si les critères suivants sont remplis :

- a. Le t_r relatif de l'analyte correspond à celui de la solution d'étalonnage avec une tolérance de +/- 0,5 ;
- b. Les ions d'identification sont présents au temps de rétention spécifique à la substance ;
- c. Les intensités relatives des ions d'identification en balayage (mode SCAN), exprimées en pourcentage de l'intensité de l'ion le plus intense, doivent correspondre à celles de l'étalon à des concentrations comparables, mesurées dans les mêmes conditions, dans les limites de la tolérance indiquée dans le tableau 23.

Tableau 23. Tolérance maximale autorisée pour les intensités relatives des ions [80].

Intensité relative (% du pic de base)	Tolérance maximale autorisée
>50%	+/- 10%
20% à 50%	+/-15%
10% à 20%	+/- 20%
≤ 10%	+/- 50%

L'identification de DEHP a été effectuée en se basant sur la recherche de trois masses m/z caractéristiques en mode SCAN, à savoir 149, 167, **279** au temps de rétention désigné (11,27 min). Sa quantification s'est basée sur la quantification de l'ion en gras en mode SIM : **279**.

L'identification de DINP a été basée sur la recherche de trois masses caractéristiques m/z en mode SCAN : 149, 127, **293** au temps de rétention désigné (12,26min).

La quantification s'est basée sur la quantification de l'ion en gras en mode SIM : **293**.

L'identification de BB a été réalisée en se basant sur la détection de quatre masses caractéristiques en mode SCAN, à savoir 91, **105**, 194 et 212, au temps de rétention spécifié (8,42min). La quantification a été effectuée en se fondant sur la mesure de l'ion majoritaire en mode SIM, qui est **105**.

5. Préparation des dilutions

En fonction de la concentration de phtalate obtenue, il pouvait être nécessaire d'utiliser un facteur de dilution différent pour obtenir des résultats dans la plage d'étalonnage. Les dilutions ont été réalisées avec du n-hexane à l'étape 5 de la méthode d'extraction des phtalates.

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

6. Calibration

Une courbe d'étalonnage interne a été établie. Généralement, l'étalonnage interne fournit des résultats reproductibles avec une meilleure précision.

Pour ce faire nous avons préparé une série de solutions de calibration regroupant six standards d'étalonnage pour chacun des deux phtalates. La concentration était de 0,5µg/mL à 11µg/mL pour DEHP (0,5, 1, 2, 5, 7, 11µg/mL), et de 2,5µg/mL à 55µg/mL pour DINP (2,5, 5, 10, 25, 35, 55µg/mL). Les points ont été préparés par transfert de 5 à 135µL de la solution mère contenant le mélange (DEHP et DINP) dans une fiole jaugée de 1mL et ajout de 135µL de la solution fille de l'EI (7,5µg/mL) et nous avons complété jusqu'au trait de jauge avec le n-hexane. Chaque point de calibration contient 1µg/mL EI pour une injection sans division (Splitless).

Le tableau 24 montre la préparation de la série de calibration de DEHP et DINP.

Tableau 24. Préparation de la série de calibration de DEHP et DINP.

C DEHP (µg/mL)	C DINP (µg/mL)	Volume EI (µL)	Volume mélange DEHP/DINP (µL)	Volume final (mL)
0,5	2,5	270	5	2
1	5	135	5	1
2	10	135	10	1
5	25	135	25	1
7	35	135	35	1
11	55	135	55	1

Nous avons analysé qualitativement les résultats en mode SCAN pour garantir des temps de rétention appropriés et l'absence de toute contamination.

Nous avons analysé quantitativement les résultats en mode SIM en se basant sur la mesure de la surface du pic au Tr désigné pour chaque molécule.

La mesure a été effectuée par l'intégration des surfaces de pic des ions m/z de quantification cibles dans le chromatogramme (105 pour BB, 279 pour DEHP et 293 pour DINP).

Pour établir la courbe d'étalonnage, nous avons tracé la réponse A/A_{EI} en fonction du rapport de concentration C/C_{EI} conformément à la formule suivante :

$$A/A_{EI} = (a_2 \times C/C_{EI}) + b_2$$

A Surface de pic du phtalate dans la solution d'étalonnage ;

A_{EI} Surface du pic de l'EI dans la solution d'étalonnage ;

a₂ Pente de la courbe d'étalonnage ;

C Concentration du phtalate individuel dans la solution d'étalonnage en mg/L ;

C_{EI} Concentration EI dans la solution d'étalonnage en mg/L ;

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

b₂ Ordonnée à l'origine de la courbe d'étalonnage.

Le coefficient de corrélation (r) de chaque courbe d'étalonnage doit être au moins égal à 0,995.

7. Contrôle qualité interne

- Blanc de réactif de laboratoire (LRB) :

C'est une aliquote de solvants qui est traitée exactement comme un échantillon, y compris l'exposition à la verrerie, à l'appareil et aux conditions utilisées pour un test particulier, mais sans échantillon ajouté. Les données du LRB sont utilisées pour évaluer la contamination de l'environnement du laboratoire (verreries, réactifs, solvants, *etc.*) [224].

Tout batch doit contenir un blanc de réactif de laboratoire, préparé en même temps que les échantillons. Ce blanc a été préparé comme dans la partie préparation des échantillons sans l'ajout de l'échantillon, il doit être inférieur à la LQ.

- Vérification de la calibration :

Une courbe de calibration sans extraction doit être passée au début de l'analyse et après chaque 20 échantillon pour s'assurer de la stabilité de la GC-MS. La déviation acceptée est entre +/-15% de la valeur prévue pour chaque phtalates [80].

- Analyse du matériau de référence certifié (CRM) :

Ce matériau de référence certifié a été utilisé pour contrôler la précision de l'analyse et pour valider les méthodes et instruments d'analyse lors de la quantification de phtalates dans la résine de PVC. La valeur analysée doit se situer à $\pm 15\%$ de la valeur attendue.

Dans notre pratique, le MRC a été soumis à une extraction puis une quantification avec chaque série du dosage.

- Blanc de solvant :

Les blancs de solvant ont été analysés périodiquement par GC-MS pour surveiller une éventuelle contamination.

8. Contrôle qualité externe (CQE)

Sont des solutions contenant des quantités connues de phtalates qui sont utilisées pour évaluer les performances du système d'instruments d'analyse. Les CQE sont obtenus à partir d'une source externe au laboratoire et ne sont pas fabriqués à partir des solutions étalons mères [224].

Les échantillons de contrôle qualité externe utilisés dans notre travail ont été obtenus à partir d'un laboratoire de contrôle qualité accrédité pour l'analyse des phtalate en Tunisie (Total Testing Service TTS, numéro d'accréditation par le conseil national d'accréditation en Tunisie (TUNAC) : 2-0018, Référentiel : ISO/IEC 17025 : 2017) (Annexe 6).

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

Le TUNAC est signataire, depuis 2008, des accords de reconnaissances mutuelles avec ILAC (International Laboratory Accreditation Cooperation) et EA (European Cooperation for Accreditation) pour l'accréditation des laboratoires d'analyses, d'essais et d'étalonnage [231].

Cinq échantillons ont été analysés dans le laboratoire de contrôle qualité accrédité pour l'analyse des phtalate en Tunisie (TTS). Ces échantillons ont fait l'objet d'un contrôle de qualité externe selon la même procédure d'analyse adopté dans notre travail.

Le tableau 25 montre la concentration de DEHP et de DINP (p/p) dans les contrôles de qualité externes.

Tableau 25. Contrôle qualité externe selon TTS.

Echantillons	% DEHP (p/p)	% DINP (p/p)
Echantillon 1 (O ₁)	< 0,1%	< 0,1%
Echantillon 2 (C ₄)	1,17%	< 0,1%
Echantillon 3 (B ₄₂)	< 0,1%	< 0,1%
Echantillon 4 (A ₁₂₆)	7,65%	< 0,1%
Echantillon 5 (A ₃₀)	11,5%	1,47%

9. Nettoyage de la verrerie

La verrerie utilisée doivent être exempts de phtalates afin de limiter le plus possible la contamination croisée. Pour la verrerie déjà utilisée, après lavage, il convient de la rincer à nouveau avec l'acide nitrique à 0,1mol/L, de l'eau, puis de l'acétone. Il convient de laisser sécher complètement la verrerie avant utilisation. Pour éviter toute contamination, ne pas utiliser de récipient en plastique (par exemple pour l'eau) [32].

Les étapes suivies pour le nettoyage ont été les suivantes :

1. Immersion dans un détergent dans l'eau pendant une nuit complète ;
2. Lavage à l'eau du robinet ;
3. Lavage à l'eau distillée ;
4. Lavage avec de l'acide nitrique à 0,1mol/L.
5. Lavage à l'eau distillée ;
6. Rinçage à l'acétone ;
7. Placement dans une étuve à 105 °C jusqu'à séchage complet.

c. Calcul des résultats

Les résultats ont pu être rapportés comme suit :

$$\text{Pourcentage [Phtalate]} = \% \text{ Phtalate (p/p)} = [(C \times V \times D) / (P \times 1000)] \times 100$$

Où :

C = Concentration de phtalate dans l'échantillon GC-MS (en µg/mL) ;

V = Volume total de THF et d'hexane ajoutés aux étapes 2 et 3 de la méthode d'extraction

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

des phtalates (15mL) ;

D = Facteur de dilution de l'étape 5 de la méthode d'extraction des phtalates ;

P = Poids de l'échantillon prélevé (en mg) ;

Le calcul a été réalisé pour chaque phtalate identifié dans l'échantillon analysé.

d. Critères de jugement

Les résultats obtenus ont été comparés avec les limites réglementaires européennes, canadiennes et américaines fixées à 0,1% pour chaque phtalate analysé individuellement. Un jouet présentant une valeur supérieure à 0,1% était considéré comme non conforme.

I.8.5. Essai de migration salivaire *in vitro*

a. Principe

Pour les enfants de moins de 36 mois et pour les jouets destinés à être mis en bouche, l'exposition orale est la plus pertinente et comprend la mise en bouche (léchage, succion) et l'ingestion de matériel. C'est la principale voie d'exposition systémique pour tous les produits chimiques [41].

Selon le RIVM, l'évaluation des risques sanitaires des phtalates *via* des jouets en PVC a été conduite en considérant exclusivement la migration des substances dans la salive lors de la mise en bouche d'un jouet en matière plastique par un enfant de moins de 36 mois. Cette voie d'exposition a été jugée la plus pertinente [41].

Les jouets destinés aux enfants de moins de 36 mois sont réglementés de telle sorte qu'ils ne devraient pas contenir de petites pièces détachables pouvant présenter un risque d'étouffement. Ces pièces ne devraient donc pas être accessibles et être ingérées directement (exigences physiques et mécaniques des jouets) [57]. Ainsi, l'ingestion directe d'une partie du jouet n'a pas été prise en compte dans l'évaluation de l'exposition des enfants de moins de 36 mois aux phtalates *via* des jouets neufs en PVC.

Pour les substances chimiques contenues dans les jouets pour lesquels la mise en bouche contribue le plus à l'exposition systémique, le liquide d'extraction utilisé doit simuler la salive [41].

Suite aux essais de composition réalisés sur les jouets en PVC, un essai de migration *in vitro* vers un simulant de salive a été réalisés, qui peut simuler la migration *in vivo* afin de caractériser plus précisément les quantités des phtalates (DEHP et DINP) auxquelles les enfants de moins de 36 mois sont susceptibles d'être exposés *via* la mise en bouche des jouets.

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

Les essais de migration *in vitro* consistent à des essais de migration dans la salive artificielle sur des jouets dans lesquels le DEHP et/ou le DINP ont été identifiés et quantifiés dans les essais de composition et dont le taux dépasse la norme réglementaire internationale fixée à 0,1%.

Ces essais de migration *in vitro* ont été réalisés suivant le protocole du Joint Research Center (JRC, 2001) [232]. Ce protocole a été retenu car celui-ci est le plus communément utilisé pour réaliser des essais de migration pour les jouets en matière plastique par les différents organismes [233]. Cette méthode a été référencée par plusieurs d'autres groupes (EPA, 2017 ; OECD, 2019) [4, 24, 199].

Plusieurs autres études ont utilisé cette approche pour estimer les taux de migration des substances chimiques dans la salive [27, 33, 229, 233-235].

La méthode d'agitation dynamique telle qu'elle a été développée et validée par l'organisation néerlandaise pour la recherche scientifique appliquée (TNO), légèrement modifiée par JRC, est la méthode la plus privilégiée [235], car cette méthode semble donner les taux de migration les plus réalistes [230].

Les essais de migrations ont été réalisés à température ambiante (20 °C) et non à la température corporelle pour des raisons purement pratiques. En effet, la petite différence de température n'affectera pas de manière significative le taux de migration, car la durée d'exposition est très courte [230].

Une portion de 10cm² est découpée dans la partie de jouet la plus adaptée pouvant être en contact avec la bouche de l'enfant [233].

Une surface totale de 10cm² est choisie pour correspondre à la surface de la bouche ouverte d'un enfant, car cela donne la surface typique disponible pour la mise en bouche [41, 229].

b. Critères d'inclusion

Le test de migration salivaire *in vitro* englobe tous les jouets qui satisfont à deux conditions :

- Les jouets en PVC non conformes, c'est-à-dire ceux dont le taux de phtalates de type DEHP et/ou DINP était supérieur à la norme de 0,1%, selon les essais de composition préalablement effectués ;
- La partie restante du jouet était suffisante pour obtenir une surface totale de 10cm².

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

c. Partie expérimentale

c1. Préparation des solutions

1. Nous avons préparé une solution mère de DEHP dans le n-hexane, avec une concentration de 8,77448mg/mL.
2. Nous avons préparé une solution mère de DINP dans le n-hexane, avec une concentration de 28,60137mg/mL.
3. Nous avons préparé une solution mère de l'EI dans le n-hexane avec une concentration de 14,656512mg/mL.
4. A partir de la solution mère de l'EI (14,656512mg/mL), nous avons préparé extemporanément une solution fille à 1,0125mg/mL dans le n-hexane. A partir de cette dernière solution fille nous avons préparé une concentration de 250µg/mL dans le n-hexane et qui a été utilisée pour le dosage des phtalates (DEHP et DINP) dans des échantillons de salive et des blancs après la migration. Nous avons préparé également une concentration de 7,5µg/mL dans le n-hexane et qui a été utilisée pour la calibration des phtalates (DEHP et DINP).
5. A partir des deux solutions mères de DEHP et de DINP, nous avons préparé un mélange de DEHP et DINP ; la concentration finale de DEHP dans le mélange était de 200µg/mL (201,81304µg/mL concentration exacte) et la concentration finale de DINP était de 1000µg/mL (1001,04795µg/mL concentration exacte). Le n-hexane a été utilisé pour la dilution.
6. Préparation de la salive artificielle :
La composition de la salive artificielle qui a été utilisée comme simulant de migration est donnée dans le tableau 26.
Les différents sels ont été dissous dans de l'eau distillée et le pH a été ajusté à 6,8 avec de l'acide chlorhydrique HCl (1N).

Tableau 26. Composition et quantités à pondérer pour 1L de solution de simulant de salive [232, 233].

Réactifs chimiques	Formule	mmol/L	mg/L
Chlorure de magnésium	MgCl ₂	0,82	166,7
Chlorure de calcium	CaCl ₂	1,0	147,0
Hydrogénophosphate de dipotassium	K ₂ HPO ₄	3,3	753,1
Carbonate de potassium	K ₂ CO ₃	3,8	525,2
Chlorure de sodium	NaCl	5,6	327,3
Chlorure de potassium	KCl	10,0	745,5

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

La solution doit être conservée dans l'obscurité et ne doit pas être utilisée pendant plus de deux semaines.

c2. Procédure de migration, d'extraction et analyse par GC-MS

- Une portion de 10cm² a été découpée dans la partie de jouet la plus adaptée pouvant être en contact avec la bouche de l'enfant ;
- Chaque portion de jouet de 10cm² a été placée dans un flacon en verre de 250mL avec 50mL de simulant salivaire. Ces flacons ont été ensuite placés en position verticale sur un agitateur et agités 30min à 60tours/min. Après cette période, le simulant a été transféré dans une ampoule à décanter ;
- Une seconde migration a été réalisée sur la même portion de jouet suivant le même protocole pendant 30min. Le simulant a été ajouté à l'ampoule à décanter ;
- Au total 100mL de simulant de salive a été récupéré après la migration ;
- Le flacon a été lavé avec 20ml de n-hexane pour récupérer toute trace de phtalate, qui a été transféré dans l'ampoule à décanter ;
- Nous avons ajouté 40µL d'une solution standard de l'EI (BB) dans du n-hexane à 250µg/mL. Ce qui correspond à 10µg EI ;
- Le mélange a été soigneusement agité pendant environ 2min, en éliminant la pression périodiquement (environ toutes les 20sec) ;
- Nous avons laissé les phases se séparer pendant 20min. Après la séparation des phases, la couche inférieure de simulant de salive a été versée dans un flacon déjà utilisée pour la migration, la couche de n-hexane (la couche supérieure) a été transférée dans une fiole jaugée de 50mL ;
- Nous avons transféré le simulant de salive à partir du flacon de migration dans une ampoule à décanter pour une seconde extraction ;
- Le flacon a été ensuite lavé à nouveau avec 20mL de n-hexane et le n-hexane a été ajouté au simulant de salive dans l'ampoule à décanter, qui a été extrait une seconde fois avec les 20mL de n-hexane (même procédure) ;
- Nous avons versé la couche inférieure de simulant de salive dans un flacon à déchets ;
- La couche supérieure de solvant a été versée dans la fiole jaugée de 50mL utilisée précédemment pour la première extraction ;
- La fiole jaugée de 50mL a été complétée jusqu'à la marque de 50mL avec du n-hexane ;
- Ensuite, environ 1g de sulfate de sodium a été ajouté dans la fiole jaugée de 50mL. Le sulfate de sodium permet de piéger l'humidité potentielle restante dans l'extrait.
- Une aliquote de 20mL a été prise et évaporée en utilisant un Rotavap (max. 40°C) ;

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

- Nous avons ajouté à l'aide d'une pipette en verre 4mL de n-hexane, en faisant tourner pendant environ 30 secondes pour redissoudre entièrement l'ester de phtalate, y compris celui qui pourrait se trouver sur les parois du récipient en verre ;
- 1mL de la solution a été ensuite transféré dans un vial et analyser par GC-MS selon les mêmes conditions analytiques déjà validées et adoptées pour le dosage des phtalates dans les jouets en PVC (essai de composition). Des conditions proches ont été proposées par JRC [232, 233].
- La quantification a été réalisée par étalonnage interne au moyen d'un étalon interne (BB) ;
- La concentration de l'EI a été fixée à 1µg/mL dans chaque vial ;
- L'identification des phtalates (DEHP et DINP) a été réalisée par balayage mode SCAN (m/z 35 à 500), la quantification par mode SIM.

Nous avons utilisé un blanc pour corriger le résultat de l'échantillon si nécessaire. 50mL de simulant de salive fraîche a été introduite dans un flacon de 250mL, ensuite la solution a été traitée comme décrit dans la section précédente (sans l'ajout de l'échantillon).

c3. Calibration de DINP et DEHP

Une courbe d'étalonnage interne a été préparée, en reproduisant les mêmes points standards préparés dans les essais de composition (0,5, 1, 2, 5, 7, 11µg/mL pour DEHP et 2,5, 5, 10, 25, 35, 55µg/mL pour DINP) avec une concentration de l'EI de 1µg/mL dans chaque point de la courbe.

Nous avons tracé la courbe d'étalonnage en représentant le rapport entre la surface des pics (Etalon/EI) et la concentration de DINP ou DEHP dans les solutions d'étalonnage en µg/mL de n-hexane.

c4. Contrôle qualité interne

Les solutions pour calibration ont été analysées fréquemment pendant l'analyse des échantillons de simulant de salive, pour s'assurer de la stabilité de la GC-MS. La déviation acceptée est entre +/-15% de la valeur prévue pour chaque phtalates [80].

Nous avons établi des courbes d'étalonnage avant chaque série d'analyses et nous avons effectué des analyses de points de contrôle contenant des concentrations connues de phtalates (DEHP et DINP) tout au long de la procédure d'analyse.

d. Calcul des résultats

La détermination de la fraction qui migre de jouets vers la salive artificielle doit être exprimée en µg/min en tenant compte de 10cm² de surface de l'échantillon d'essai.

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

Le calcul s'effectue comme suit [232] :

$$\text{Migration } [\mu\text{g}/\text{min}] = \frac{\text{C } [\mu\text{g}/\text{mL}] \times \text{V}_{\text{extract}} [\text{mL}] \times 10[\text{cm}^2]}{\text{T } [\text{min}] \times \text{A } [\text{cm}^2]} \times F$$

C Concentration de phtalate dans n-hexane [$\mu\text{g}/\text{mL}$] ;

V_{extract} Volume de l'extraction (50mL) ;

T Temps de l'expérience (60min) ;

A Surface de l'échantillon d'essai (cm^2) ;

F Facteur pour l'étape de concentration ($F= 0,2$).

e. Critères de jugement

Selon le Comité scientifique de la toxicité, de l'écotoxicité et de l'environnement de l'UE (SCCTEE 1998), la quantité maximale admissible extraite à partir d'un jouet est de 0,3mg DEHP et 1,2 mg DINP à partir de 10 cm^2 d'articles mâchés sur une période de 3h [47]. Ces valeurs représentent la valeur guide pour les essais de migration.

Tableau 27. Valeurs guides de migration des phtalates dans les jouets (SCTEE 1998)
[16, 27, 47].

Phtalate	Valeurs guides de migration ($\text{mg}/10\text{cm}^2/ 3\text{h}$)	Valeurs guides de migration ($\mu\text{g}/ 10\text{cm}^2/ \text{min}$)
DEHP	0,3	1,67
DINP	1,2	6,67

I.8.6. Essai de migration salivaire *in vivo*

a. Principe

L'objectif de cette étape était d'étudier la migration des phtalates (DEHP et DINP) à partir des jouets en PVC dans des conditions aussi proches que possible de l'utilisation quotidienne des jouets par les enfants.

Il a été admis qu'il est impossible de mener des études avec de enfants pour des raisons pratiques et éthiques. Il a donc été convenu de recourir à des adultes comme substituts. Les différences dans la façon de mâcher et de sucer les jouets entre les enfants et les adultes n'ont pas été considérées comme introduisant une erreur significative dans l'estimation de l'exposition. La variation intra-individuelle de la composition de la salive (en particulier le pH et les protéines) entre les volontaires n'a pas eu d'influence sur le taux de libération de phtalates. Les différences dans la composition de la salive des enfants et des adultes pourraient être plus significatives, mais les informations quantitatives n'étaient pas disponibles et ces différences

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

ont donc été ignorées [42]. D'après le groupe de consensus néerlandais (RIVM, 1998), il est acceptable d'utiliser les taux de migration salivaire mesurés dans le cadre de l'expérience sur les volontaires comme meilleure estimation des taux de migration salivaire chez les enfants [42].

Le test de migration *in vivo* réalisé dans notre travail a suivi l'étude rapportée par le groupe de consensus néerlandais (RIVM, 1998 [42]) décrit dans les travaux de Niinou T et *al.* (2001) [45], et Niinou T et *al.* (2003) [44].

Le test de migration salivaire *in vivo* a été soumis à une validation par le conseil scientifique de la faculté de médecine de l'université Ferhat Abbes 1 de Sétif.

b. Critères d'inclusion

Les jouets inclus dans les essais de migration salivaire *in vivo* devaient répondre aux critères suivants :

- Être en PVC, non conformes lors des essais de composition par rapport à leurs teneurs en DEHP et/ou du DINP ;
- La partie restante du jouet devait permettre le prélèvement d'une portion de 10cm².

c. Consentement libre et éclairé des participants

Les adultes volontaires ont exprimé leur consentement libre et éclairé pour participer à toutes les procédures associées à l'étude, conformément aux directives éthiques régissant les protocoles de recherche impliquant des sujets humains [236].

En annexe 7 le document de consentement libre et éclairé signé par les adultes volontaires participant à l'étude.

d. Lieu de réalisation de l'essai de migration *in vivo*

Le test de migration salivaire chez les volontaires sains a été effectué au sein du service de Toxicologie du Centre Hospitalo-universitaire CHU Saadna Abdenour à Sétif.

e. Partie expérimentale

Nous avons remis à deux adultes volontaires un échantillon de 10cm² découpé à partir d'un jouet contenant des phtalates (DEHP et/ou DINP) et nous leur avons demandé de mettre l'échantillon en bouche, de le sucer ou de le mâcher doucement pendant 15min, au cours desquelles toute la salive a été recueillie dans un flacon en verre. Cette opération a été répétée pour un total de quatre séances de 15min, avec une pause de 5min après chaque séance. Les quatre échantillons de salive prélevés sur chaque volontaire ont été regroupés en un « pool de salive » et leur volume total a été enregistré.

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

Les échantillons d'essai ont été brièvement rincés à l'eau et réutilisés à chaque période d'exposition suivante. Il y avait également un blanc de 15min à partir de chaque sujet volontaire, constitué d'un disque en polytétrafluoroéthylène [42].

Le recueil du blanc s'est effectué avant le début de l'expérience avec les échantillons, avec un intervalle de 5min.

Le pool de salive obtenu a été soumis à une extraction avec le n-hexane et à une analyse par GC-MS, suivant la méthode précédemment employée dans les essais de migration salivaire *in vitro*.

Nous avons établi des courbes d'étalonnage interne avant chaque série d'analyses et nous avons effectué des analyses de points de contrôle contenant des concentrations connues de phtalates (DEHP et DINP) tout au long de la procédure d'analyse.

f. Calcul des résultats

La détermination de la fraction qui migre de jouets vers la salive des volontaires a été exprimée en µg/min en tenant compte de 10cm² de surface de l'échantillon d'essai.

Le calcul s'est basé sur la même formule de calcul de la migration *in vitro*.

$$\text{Migration } [\mu\text{g}/\text{min}] = \frac{\text{C } [\mu\text{g}/\text{mL}] \times \text{V}_{\text{extract}} [\text{mL}] \times 10[\text{cm}^2]}{\text{T } [\text{min}] \times \text{A } [\text{cm}^2]} \times F$$

Un taux de migration salivaire a été calculé pour chaque échantillon soumis au test de migration *in vivo* chez les deux volontaires.

g. Critères de jugement

Selon le Comité scientifique de la toxicité, de l'écotoxicité et de l'environnement de l'UE (SCCTEE 1998), la quantité maximale admissible extraite à partir d'un jouet est de 0,3mg DEHP et 1,2mg de DINP par 10cm² d'articles mâchés sur une période de 3h [16, 27, 47]. Ces valeurs représentent la valeur guide pour les essais de migration (Tableau 33).

I.8.7. Evaluation de l'exposition des enfants de moins de 36 mois aux DEHP et DINP

a. Principe

L'évaluation des expositions repose sur le calcul de la DJE correspondant à la quantité de substance à laquelle est exposée quotidiennement la population, elle est exprimée en mg/kg/j [3, 41]. Le calcul de cette DJE nécessite l'élaboration de scénarios d'exposition en fonction des habitudes de la population et la sélection des variables d'exposition à partir des données disponibles ou d'hypothèses lorsque les données nécessaires ne sont pas disponibles.

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

Dans ce travail, l'évaluation des expositions vise à caractériser l'exposition des enfants de moins de 36 mois au DINP et au DEHP identifiés et quantifiés dans les jouets en PVC analysés lorsque ces derniers sont portés à la bouche.

L'analyse de l'exposition a porté sur les jouets en PVC présentant des niveaux de phtalates dépassant individuellement le seuil normatif (0,1%).

Au fil du temps, de nombreuses approches mathématiques ont été utilisées pour estimer l'exposition des enfants à la suite de la mise en bouche de jouets [4, 42].

L'âge joue un rôle clé dans les considérations sur l'exposition par la mise en bouche des jouets chez l'enfant [4]. La population d'intérêt (enfants de moins de 36 mois) est scindée en trois classes d'âge afin d'appréhender les évolutions rapides en termes de développement psychomoteur. Si la distinction des classes d'âge 1-2 ans et 2-3 ans est généralement admise, certains rapports préconisent en revanche, de prendre en compte des classes d'âge plus fines pour les enfants entre 1 et 12 mois. Les classes d'âge retenues dans cette partie ne tiennent pas compte de cette dernière recommandation, car il n'existe pas suffisamment de données pour établir de façon précise, des sous-classes corrélées au comportement de mise en bouche et au poids de l'enfant [3, 4, 41].

Les enfants de moins de 36 mois constituent une population hétérogène à la fois en termes de paramètres physiques - tels que le poids corporel, le débit et la composition de la salive, la surface et le volume de la bouche - dont la variabilité est directement liée à la croissance de l'enfant que de facteurs plus spécifiques liés à son développement psychomoteur tels que le comportement de préhension des objets et de mise en bouche volontaire [3].

L'évolution de ces paramètres en fonction de l'âge peut avoir un impact non négligeable sur l'évaluation de l'exposition. La variabilité de ces facteurs a donc conduit à considérer plusieurs classes d'âge au sein de la population d'étude : entre 0 et 1 an ; entre 1 an et 2 ans et entre 2 et 3 ans.

b. Calcul de la DJE

Le calcul de la DJE est réalisé pour chaque phtalate analysé. Il sera réalisé pour les trois classes d'âge de 0 à 1 an, de 1 à 2 ans et de 2 à 3 ans en utilisant l'équation ci-dessous [3, 4] :

$$\text{DJE } (\mu\text{g/kg/j}) = (\text{F} \times \text{S} \times \text{D})/\text{Pc}$$

Pc Le poids corporel (kg) ;

F Le flux de migration salivaire ($\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$) ;

S La surface en contact avec la bouche (10 cm^2) ;

D La durée de mise en bouche (min/j).

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

Les variables d'exposition liées au phénomène de la mise en bouche du jouet par l'enfant et qui influencent sur la DJE sont :

1. Durée de mise en bouche

D'après le rapport de l'ANSES (2016) ; les données de mise en bouche extraites du rapport du Comité européen de normalisation (CEN, 2015) ont été retenues pour l'évaluation des expositions en raison de sa robustesse. En plus, elle présente l'avantage d'être récente [3].

Tableau 28. Durée moyenne de mise en bouche (min/jour) [3].

Classe d'âge	1 -12 mois	12-24 mois	2-3 ans
Durée moyenne de mise en bouche (min/jour)	56	17,1	

2. Surface de jouet mise en bouche par l'enfant

En l'absence de données plus pertinentes sur ce paramètre, la surface de contact retenue est de 10cm², quelle que soit la classe d'âge. Cette valeur correspond à une surface standard de test. Cette surface semble toutefois cohérente par rapport à la taille attendue des objets mis en bouche [3, 4, 41]. Il est à noter que la DJE estimée est directement proportionnelle à cette valeur [3].

3. Poids corporel de l'enfant

Les données sur le poids corporel des enfants de moins de 36 mois ont été retenues à partir du rapport de l'ANSES (2016) [3].

Tableau 29. Poids corporels de l'enfant de 0 à 36 mois [3].

Catégorie d'âge (ans)	Poids corporel (kg)		
	Minimum	Moyenne	Maximum
0-1 an	2,6	7,5	11,5
1-2 ans	8	11,1	16
2-3 ans	9,88	13,2	20

4. Données sur la migration des substances à partir de jouets

La quantité de phtalate individuel qui migre à partir du jouet dans la salive a été déterminée préalablement dans les essais de migration salivaire *in vitro* et *in vivo*.

Dans notre étude, la DJE a été calculée en se fondant sur les taux de migration *in vitro*, lesquels étaient supérieurs à ceux de la migration *in vivo*, ce qui accroît la marge de sécurité dans une approche raisonnablement protectrice [3]. Lorsque les taux de migration sont utilisés à des fins d'évaluation des risques, un taux de migration élevé se traduira par une évaluation des risques plus prudente [230].

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

c. Critères de jugement

La DJE calculées pour chaque phtalate (DEHP et DINP) dans les trois classes d'âge de moins de 36 mois a été comparée avec la dose journalière admissible (DJA) proposée par EFSA [32, 71, 86, 203-205] (Tableau 15)

I.8.8. Caractérisation du risque

Dans le cadre de notre travail, seuls des effets à seuil ont été retenus lors de l'étape de caractérisation des dangers et seuls les jouets qui présentent des teneurs en phtalates dépassant les limites réglementaires et qui ont subi un test de migration salivaire *in vitro* ont été retenus lors de l'étape de caractérisation des risques.

Le niveau de risque est alors exprimé par le QD qui est le rapport entre la dose journalière d'exposition et la VTR appropriée [3].

La valeur numérique de ce rapport permet de savoir si la dose reçue, dépasse ou non la VTR :

$$\text{QD} = \text{DJE}/\text{VTR}$$

Pour le choix de la VTR, nous avons retenu la VTR proposée par l'autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) en se fondant sur des critères d'explicitation de la démarche mais aussi de la qualité de l'étude clé, le choix de la dose critique et des facteurs d'incertitude [205]. Le résultat du calcul de QD s'interprète comme suit :

Un QD supérieur à 1 signifie que l'effet toxique peut se déclarer, sans qu'il soit possible d'en prédire la probabilité de survenue, alors qu'un QD inférieur à 1 signifie qu'aucun effet toxique n'est théoriquement attendu dans la population exposée [3, 20].

I.9. TRAITEMENT DES DONNÉES ET ANALYSES STATISTIQUES

Les données expérimentales ont été saisies et traitées statistiquement en utilisant le logiciel IBM SPSS STATISTICS version 25 et Microsoft office Excel 2013.

L'analyse descriptive des variables quantitatives a été réalisée par le calcul des paramètres de tendance centrale (la moyenne, le mode et la médiane) et des paramètres de dispersion (l'écart-type, la variance, , les quartiles, le minimum et le maximum) ainsi que la détermination des intervalles de confiance (IC 95%).

Pour les variables qualitatives, l'analyse descriptive a été exprimée en pourcentages et en effectifs. Les données ont également été présentées sous formes de représentations tabulaires et graphiques.

Concernant l'analyse statistique inférentielle, le test *khi 2* et le test exact de *Fisher* ont été utilisés pour étudier la relation entre les variables qualitatives avec un seuil de signification de 5% après vérification des conditions d'application de chaque test.

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

Des études comparatives (taux de migration en fonction de l'essai et le niveau d'exposition en fonction de l'âge de l'enfant) ont été réalisées à l'aide de tests paramétriques et non paramétriques. Les tests paramétriques, utilisés lorsque les données étaient normalement distribuées et que les conditions d'homogénéité de la variance étaient respectées, comprenaient l'analyse de la variance à un facteur (ANOVA) et le test *t* de *Student*.

Les tests non paramétriques comprenaient le test de *Kruskal-Wallis*, le test de *Wilcoxon* et le test de *Mann-Whitney*. Ces tests ont été utilisés lorsque les données ne suivaient pas une distribution normale ou que les conditions d'homogénéité de la variance n'étaient pas respectées. Le test de *Kruskal-Wallis* et le test ANOVA ont été utilisés pour comparer la moyenne entre trois groupes ou plus.

Le test de *Wilcoxon* a été utilisé pour comparer la moyenne entre deux groupes appariés, et le test de *Mann-Whitney* et *Student* ont été utilisés pour comparer la moyenne entre deux groupes indépendants. Les tests paramétriques et non paramétriques ont permis de s'assurer de la robustesse des résultats, en prenant en compte les différentes distributions et conditions de variance des données.

Les relations entre le taux des phtalates et le taux de migration dans les différents essais ainsi que la relation entre la migration *in vivo* et *in vitro* ont été évaluées à l'aide du test de corrélation de *Pearson* et de *Spearman* selon les conditions d'application de chaque test.

Le test de régression linéaire est une méthode statistique puissante utilisée pour évaluer la relation linéaire entre une variable dépendante (ou variable à prédire) et une ou plusieurs variables indépendantes (ou variables explicatives). Il est couramment utilisé en analyse de données pour comprendre comment une ou plusieurs variables indépendantes influencent la variable dépendante.

Nous avons évalué la qualité du modèle en examinant diverses statistiques, telles que le coefficient de détermination (R^2), qui indique à quel point le modèle explique la variabilité de la variable dépendante. Un R^2 élevé indique un meilleur ajustement du modèle.

Un niveau de signification de 5% (0,05) a été adopté pour tous les tests statistiques utilisés dans notre étude.

- Pour la validation analytique de la technique de dosage des phtalates type DEHP et DINP, nous avons procédé comme suit :
- La détermination des pentes de droites d'ajustement ;
- La détermination des ordonnées à l'origine des droites d'ajustement ;
- Le calcul du coefficient de corrélation ;
- L'utilisation du test de comparaison des ordonnées à l'origine avec zéro (test *t*) ;

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

- L'utilisation du test de comparaison des pentes des droites d'ajustement (test t)
- L'estimation de l'intervalle de confiance de recouvrement moyen ;
- Le calcul de coefficient de variation de répétabilité ;
- Le calcul de coefficient de variation de la fidélité intermédiaire ;
- Le calcul du biais relatif.



CHAPITRE II
RESULTATS

CHAPITR II. RESULTATS

II.1. CARACTÉRISTIQUES DE LA POPULATION ÉTUDIÉE

Notre sélection non aléatoire s'est portée sur 271 jouets neufs en plastique souple achetés auprès des grands magasins de jouets situés dans six wilayas de la région Nord de l'Algérie, à savoir Sétif, Constantine, Annaba, Bejaïa, Alger et Oran.

II.1.1. Répartition des jouets sélectionnés selon la wilaya de provenance

Le tableau 30 montre la provenance des jouets inclus dans notre étude.

Tableau 30. Répartition des jouets sélectionnés selon la wilaya de provenance (n=271).

	Effectifs	Pourcentage
Alger	27	10,0%
Annaba	72	26,6%
Bejaia	42	15,5%
Constantine	53	19,5%
Oran	39	14,4%
Sétif	38	14,0%
Total	271	100,0%

II.1.2. Répartition des jouets sélectionnés selon le pays d'origine

Le tableau 31 montre l'origine des 271 jouets inclus dans cette étude.

Tableau 31. Répartition des jouets sélectionnés selon le pays d'origine (n=271).

	Effectifs	Pourcentage
Chine	198	73,1%
Algérie	9	3,3%
Non mentionné	64	23,6%
Total	271	100,0%

II.1.3. Répartition des jouets sélectionnés selon le type de jouets

Les jouets que nous avons sélectionnés ont été classés en fonction de leur type (Tableau 32).

Tableau 32. Répartition des jouets sélectionnés selon le type de jouets (n=271).

	Fréquence	Pourcentage
Animaux	53	19,56%
Poupées	36	13,28%
Miniatures de personnage	2	0,74%
Ballons	23	8,49%
Jouets de bain	49	18,08%
Balles	11	4,06%
Cubes	3	1,11%
Accessoires de poupées	46	16,97%
Jouets de construction	20	7,38%
Aliments en pastique	28	10,33%
Total	271	100,0%

CHAPITR II. RESULTATS

II.1.4. Répartition des jouets sélectionnés selon le prix d'achat

Le tableau 33 illustre la distribution des jouets inclus dans notre étude en fonction du prix d'achat. Tous les jouets étaient vendus à un prix inférieur à 1000DA.

Tableau 33. Répartition des jouets sélectionnés selon le prix d'achat (n=271).

	Fréquence	Pourcentage
<200DA	36	13,3%
200-400DA	91	33,6%
400-600DA	93	34,3%
600-800DA	19	7,0%
>800DA	32	11,8%
Total	271	100,0%

II.2. IDENTIFICATION DE LA NATURE CHIMIQUE DU POLYMERE

II.2.1. Répartition des jouets sélectionnés selon les résultats du test de flamme

Le tableau 34 illustre les résultats du test de flamme.

Tableau 34. Répartition des jouets sélectionnés selon les résultats du test de flamme (n=271).

	Effectifs	Pourcentage
Négatif	119	43,9%
Positif	152	56,1%
Total	271	100,0%

II.2.2. Répartition des jouets sélectionnés selon les résultats de l'analyse IR

Le tableau 35 illustre la distribution des jouets ayant présenté un résultat positif lors du test de flamme en fonction des résultats de l'analyse IR (n=152).

Tableau 35. Répartition des jouets sélectionnés selon les résultats de l'IR (n=152).

	Effectifs	Pourcentage
Négatif	3	2%
Positif	149	98%
Total	152	100,0%

Parmi les 152 jouets qui ont présenté un résultat positif lors du test de flamme, 149 d'entre eux, soit 98%, ont également donné un résultat positif lors de l'analyse IR, tandis que trois jouets, soit 2%, ont montré un résultat négatif par IR.

Les figures 27 et 28 représentent les spectres IR des jouets S₃₃ et A₄₀, obtenus avec un spectrophotomètre IR-ATR.

CHAPITRE II. RESULTATS

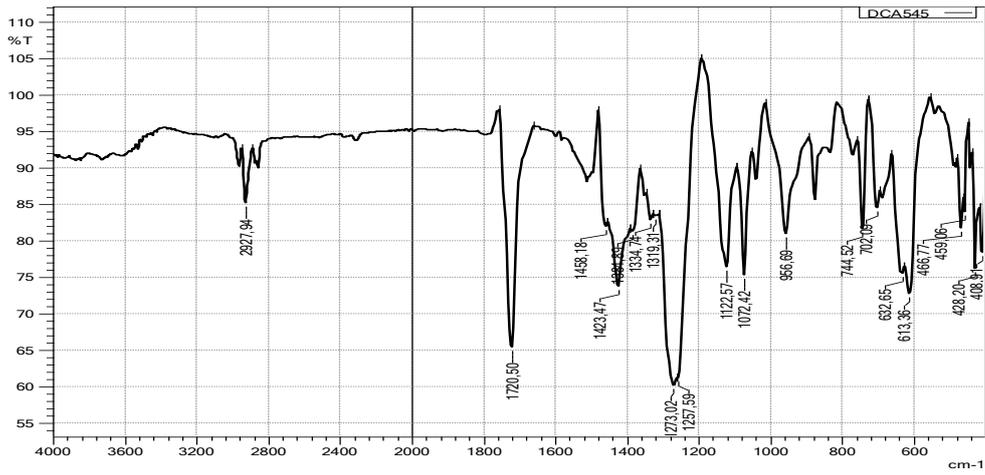


Figure 27. Spectre IR-ATR positif de l'échantillon S33.

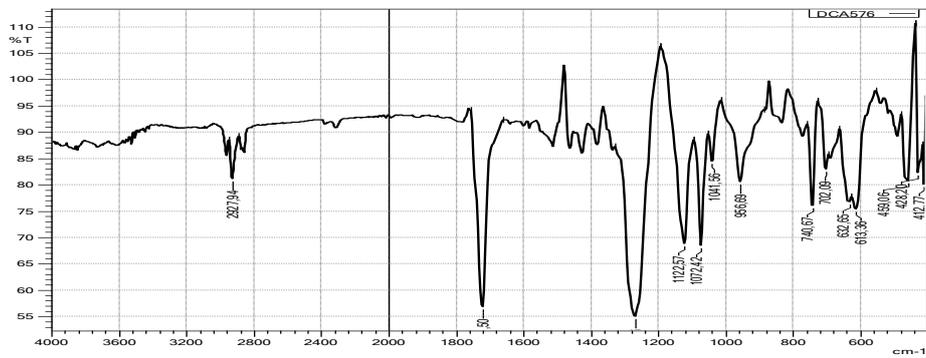


Figure 28. Spectre IR-ATR positif de l'échantillon A40.

La figure 29 illustre le spectre IR du PVC étalon analysé par spectroscopie IR-FTIR.

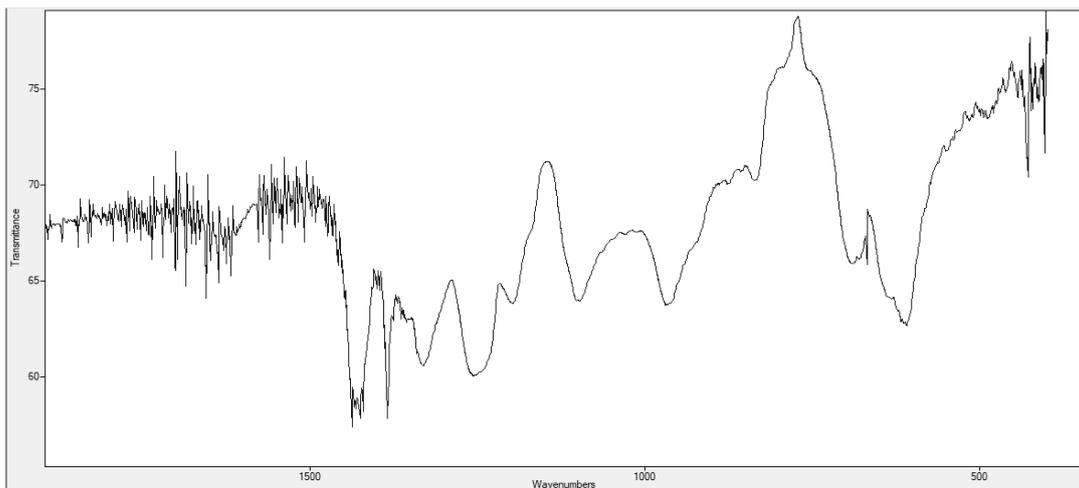


Figure 29. Spectre IR du PVC étalon analysé par spectroscopie IR-FTIR.

CHAPITR II. RESULTATS

II.2.3. Fréquence relative des jouets en PVC souple commercialisés dans la région du Nord Algérien

L'examen par spectroscopie IR a confirmé la présence de PVC dans 149 des 271 jouets en plastique inclus dans notre étude. La fréquence relative de jouets en PVC souple s'est établie à 55%.

II.2.4. Caractéristiques des jouets en PVC commercialisés dans la région du Nord Algérien

a. Répartition des jouets en PVC selon la wilaya de provenance

Les jouets identifiés comme étant en PVC ont été classés en fonction de la wilaya d'origine, comme présenté dans le tableau 36 (n=149).

Tableau 36. Répartition des jouets en PVC selon la wilaya de provenance (n=149).

	Fréquence	Pourcentage
Annaba	13	8,7%
Sétif	20	13,4%
Constantine	45	30,2%
Bejaia	30	20,1%
Alger	19	12,8%
Oran	22	14,8%
Total	149	100,0%

b. Répartition des jouets en PVC selon le pays d'origine

Parmi tous les jouets identifiés comme étant en PVC, il a été observé que près d'un quart, soit 21,5% (32 jouets), provenaient d'une source inconnue, tandis que 117 jouets, soit 78,5%, étaient d'origine chinoise.

Parmi les 271 jouets sélectionnés initialement, 59,1% des jouets provenant de Chine étaient en PVC, tandis que 40,9% n'étaient pas en PVC. En ce qui concerne les jouets sans mention du pays d'origine, 50% étaient en PVC, et tous les jouets de production locale n'étaient pas en PVC (Tableau 37).

Tableau 37. Répartition des jouets sélectionnés selon le pays d'origine et la nature du polymère (n=271).

		Répartition des jouets analysés selon la nature du polymère		Total	<i>p</i>
		Non PVC	PVC		
Répartition des jouets analysés selon l'origine	Algérie	9	0	9	0,001*
	Chine	81	117	198	
	Non mentionné	32	32	64	
Total		122	149	271	

CHAPITRE II. RESULTATS

Il existait une corrélation statistiquement significative entre la nature du polymère des jouets et leur pays d'origine ($p = 0,001$).

c. Répartition des jouets en PVC selon le type de jouet

Le tableau 38 représente la répartition des jouets en PVC souple selon le type de jouet.

Tableau 38. Répartition des jouets en PVC souple selon le type de jouet (n=149).

	Fréquence	Pourcentage
Animaux	37	24,8%
Poupées	33	22,1%
Miniatures de personnage	2	1,3%
Ballons	16	10,7%
Jouets de bain	48	32,2%
Balles	7	4,7%
Cubes	2	1,3%
Accessoires pour poupées	4	2,7%
Total	149	100,0%

d. Répartition des jouets en PVC souple selon le prix d'achat

Le tableau 39 illustre la répartition des jouets en PVC souple selon le prix d'achat (n=149). Plus de la moitié des jouets en PVC souple (53%) ont été acquis à un prix inférieur à 400DA.

Tableau 39. Répartition des jouets en PVC souple selon le prix (n=149).

	Fréquence	Pourcentage
<200DA	22	14,8%
200-400DA	57	38,2%
400-600DA	38	25,5%
600-800DA	13	8,7%
>800DA	19	12,8%
Total	149	100,0%

II.2.5. Comparaison entre les techniques d'identification du polymère (test de flamme et spectroscopie IR)

Nous avons comparé les résultats obtenus par les deux techniques d'identification du polymère type PVC (test de flamme et spectroscopie IR) (Tableau 40).

Tableau 40. Comparaison des résultats obtenus par test de flamme et spectroscopie IR.

		Test de flamme		Total
		Positifs	Négatifs	
IR	Positifs	149	0	149
	Négatifs	3	119	122
Total		152	119	271

CHAPITRE II. RESULTATS

Nous avons identifié trois cas de faux positifs (résultats positifs au test de flamme et négatifs par spectroscopie IR). Le nombre de vrais négatifs s'élevait à 122 (résultats négatifs par spectroscopie IR).

La spécificité du test de flamme a été calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Spécificité} = \text{VN} / (\text{VN} + \text{FP}) = 122 / (122+3) = 0,976.$$

La spécificité du test de flamme était de 97,6%.

II.3. MISE AU POINT ET OPTIMISATION D'UNE TECHNIQUE DE DOSAGE DE DEHP ET DINP DANS LES JOUETS EN PLASTIQUE

II.3.1. Désignation du temps de rétention (Tr) et obtention des spectres de masse

Le Tr et les ions d'identification des phtalates analysés (DEHP et DINP) et BB sont présentés dans le tableau 41.

Tableau 41. Temps de rétention et ions d'identification des phtalates analysés (DEHP et DINP) et BB.

Molécule	Tr (min)	Ions d'identification ID (m/z)	Intensité relative entre les ID
BB (EI)	8,42	105, 91, 212, 194	100 : 55 : 26 : 11
DEHP	11,27	149, 167, 279, 150	100 : 42 : 16 : 11
DINP	12,26	149, 127, 293, 167	100 : 21 : 26 : 13

La figure 30 représente le chromatogramme du mélange des étalons DEHP 11µg/mL/DINP 55µg/mL en mode SCAN.

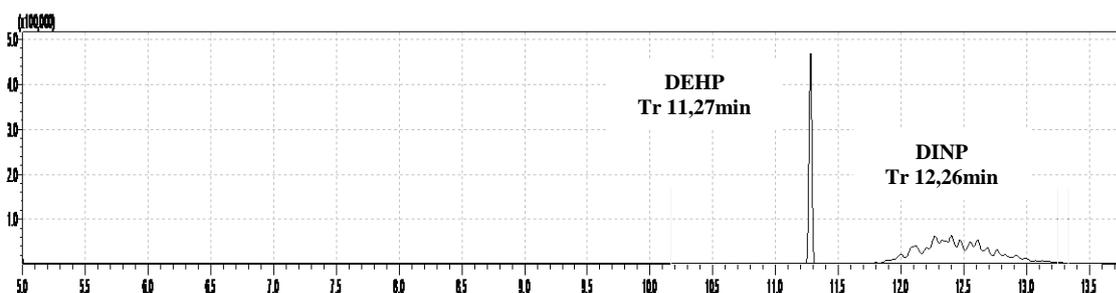


Figure 30. Chromatogramme du mélange des étalons DEHP (11µg/ml) /DINP (55µg/mL) en mode SCAN.

La figure 31 représente le chromatogramme du mélange des étalons DEHP (11µg/mL), DINP (55µg/mL) et BB (11µg/mL) en mode SCAN.

CHAPITRE II. RESULTATS

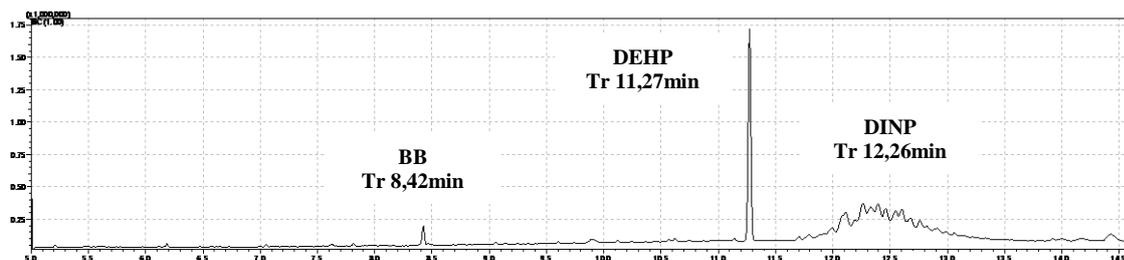


Figure 31. Chromatogramme du mélange DEHP (11 μ g/mL), DINP (55 μ g/mL) et BB (1 μ g/mL).

Le spectre de masse de BB comporte quatre masses d'identification (m/z) suivantes : 105, 91, 212, 194 (Figure 32).

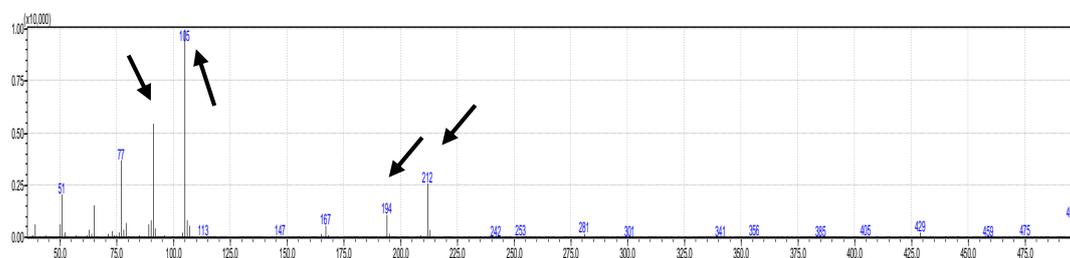


Figure 32. Spectre de masse de BB en mode SCAN.

Le spectre de masse de DEHP comporte les masses d'identification (m/z) suivantes : 149, 167, 279, 150 (Figure 33).

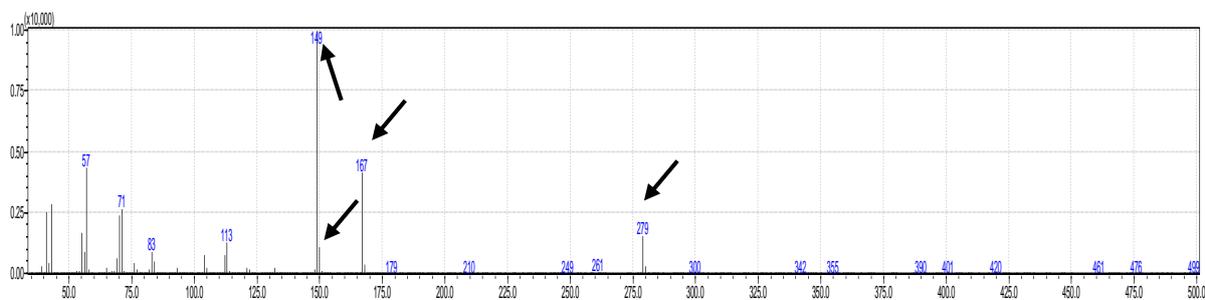


Figure 33. Spectre de masse de DEHP en mode SCAN.

Le spectre de masse de DINP comporte les masses d'identification (m/z) suivantes : 149, 167, 293 et 127 (Figure 34).

CHAPITRE II. RESULTATS

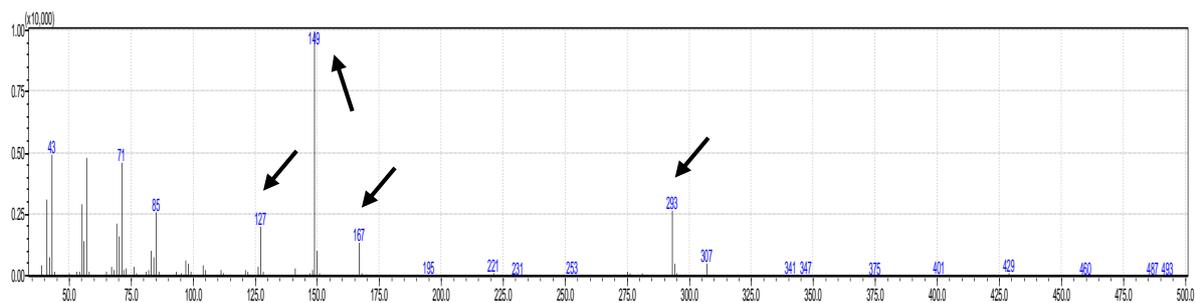


Figure 34. Spectre de masse de DINP en mode SCAN.

Les chromatogrammes de DEHP (11 μ g/mL), DINP (55 μ g/mL) et BB (1 μ g/mL) analysés individuellement en mode SIM, ainsi que celui du mélange DEHP (11 μ g/mL)/DINP (55 μ g/mL) sont représentés dans les figures 35, 36, 37, 38.

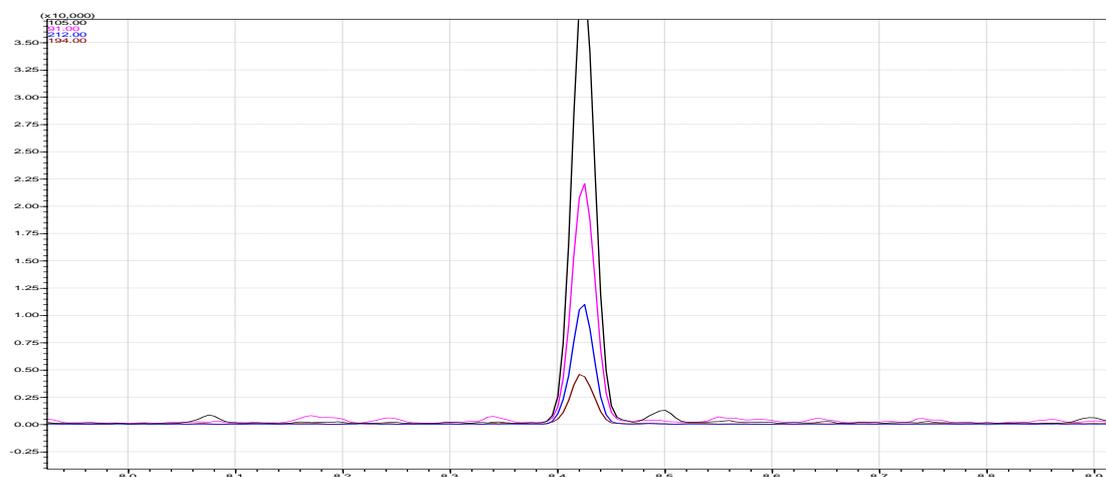


Figure 35. Chromatogramme du BB (1 μ g/mL) en mode SIM.

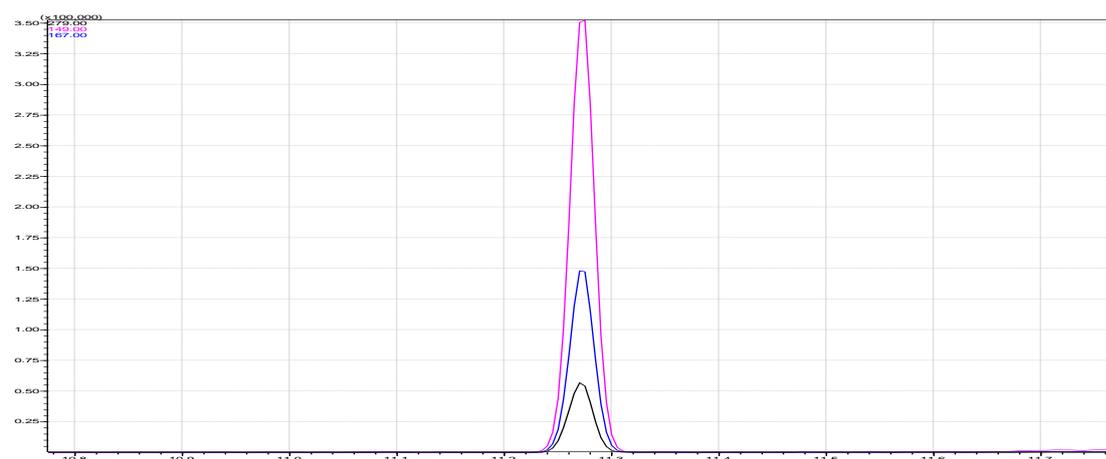


Figure 36. Chromatogramme de DEHP (11 μ g/mL) mode SIM.

CHAPITRE II. RESULTATS

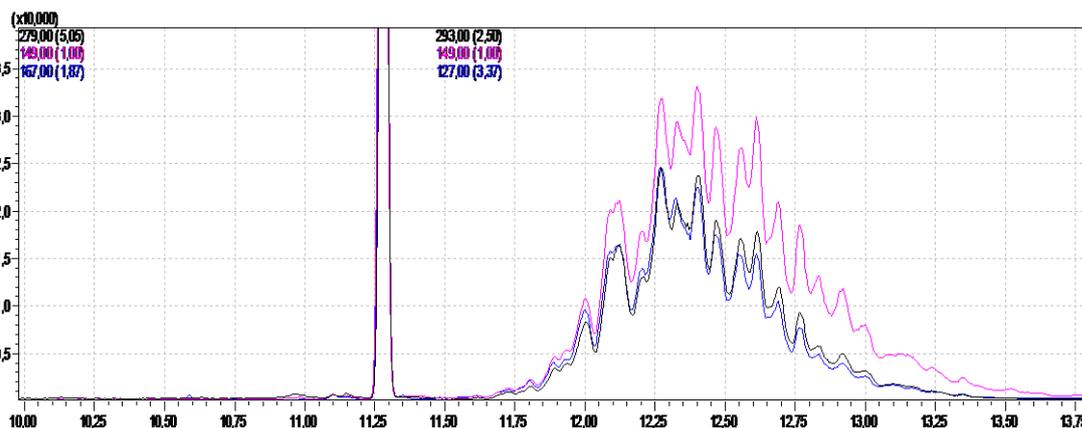


Figure 37. Chromatogramme de DINP (55µg/mL) en mode SIM.

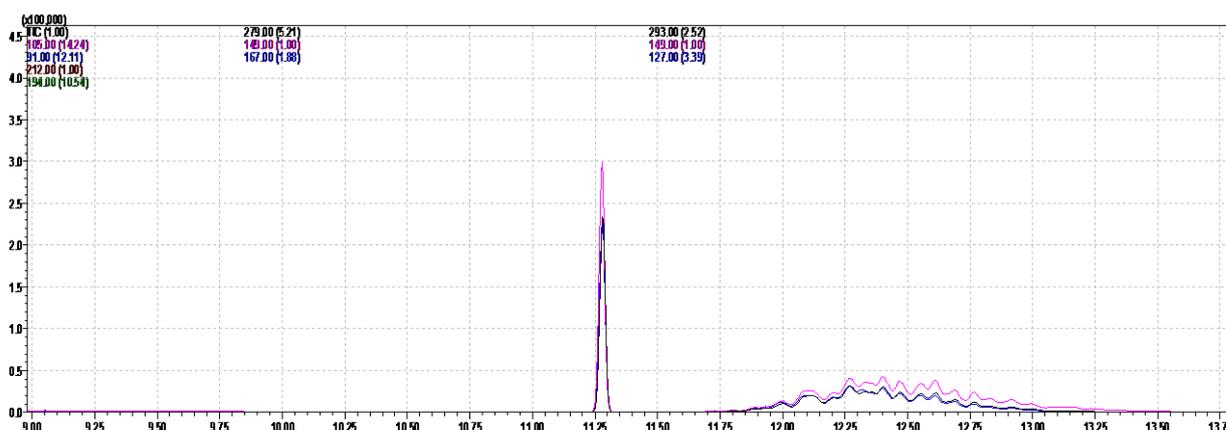


Figure 38. Chromatogramme du mélange des étalons DEHP (11µg/mL)/ DINP (55µg/mL) en mode SIM.

L'identification de DEHP a été basée sur la recherche de trois masses (m/z) caractéristiques en mode SCAN : 149, 167, **279** au Tr désigné (11,27min).

Sa quantification a été réalisée en se basant sur l'ion en gras en mode SIM, à savoir l'ion avec une masse de 279.

L'identification du DINP reposait sur la recherche de trois masses caractéristiques m/z en mode SCAN, à savoir 149, 127 et **293**, à un Tr désigné de 12,26min. La quantification, quant à elle, se fondait sur la quantification de l'ion en gras en mode SIM, à savoir l'ion 293.

L'identification de BB est basée sur la recherche de quatre masses caractéristiques en mode SCAN, à savoir 91, **105**, 194, et 212, à un Tr désigné (8,42min). La quantification, se fondait sur la quantification de l'ion majoritaire en mode SIM, à savoir l'ion 105.

CHAPITRE II. RESULTATS

II.3.2. Optimisation des paramètres de la méthode GC et la méthode masse

Les chromatogrammes obtenus avec les blancs matrices analysés après les matrices chargées avec 11µg/mL DEHP et 55µg/mL DINP ont montré la présence de signal provenant de résidus de phtalates, indiquant la présence d'effet mémoire.

Pour prévenir toute rétention des phtalates, une caractéristique inhérente à ces substances, dans la colonne et, par conséquent, éliminer l'effet mémoire, le dernier palier de température du programme thermique de la GC à 310°C a été prolongé à 7min au lieu de 4min. En conséquence, le temps d'analyse a augmenté de 14,67min à 17,67min.

Malgré l'extension du temps à 17,67min, l'effet mémoire de DEHP persistait. Par conséquent, le temps du dernier palier a été étendu à 10 minutes, portant ainsi le temps total d'analyse à 20,67min.

Avec ce programme thermique, tous les phtalates sont correctement éliminés de la colonne. En supprimant l'effet mémoire, la séquence des injections peut désormais être effectuée de manière aléatoire.

Le tableau 42 résume les conditions finales de la GC-MS après optimisation.

Tableau 42. Conditions finales de la GC-MS.

Instrument			
GC-MS		SHIMADZU-NEXIS GC 2030-GCMS QP 2020 NX	
Auto-injecteur (auto-sampler)		SHIMADZU AOC-20i plus	
Colonne		Rxi [®] -5MS ; 30m x 0,25mm DI x 0,25µm	
Conditions analytiques			
GC			
Température de l'injecteur		: 290 °C	
Température du four		50° C (1min) - (30 °C/min) - 280 °C - (15 °C/min)- 310 °C (10min)	
Mode d'injection		Splitless	
Débit du gaz vecteur (gaz He)		1mL/min, débit constant	
Volume d'injection		1µL	
Linear velocity		36,8cm/s	
Purge Flow		3,0mL/min	
Temps mort du solvant (solvant cut time)		6min	
MS			
Température de la source		200 °C	
Température de la ligne de transfert		310 °C	
Acquisition mode		Scan/SIM	
Scan		SIM	
Scan range	m/z 35-500	Monitoring Ions	voir tableau 43
Event time	0,30 sec	Event Time	0,2sec
Scan speed	1666u/sec		
Tuning Mode		Normal	

CHAPITRE II. RESULTATS

Tableau 43. Paramètres SIM après optimisation.

	Tr estimée (min)	Ions correspondants (m/z)
Groupe SIM 1	6 – 9,85	
BB (EI)	8,42	91, 105 , 194, 212
Groupe SIM 2	9,85 – 14,25	
DEHP	11,27	149, 167, 279
DINP	12,26	149, 127, 293

En gras, l'ion de quantification.

II.3.3. Détermination du rendement de l'extraction

Dans notre pratique, le MRC a été soumis à une extraction puis une quantification trois fois successives, les concentrations obtenues sont résumées dans le tableau 44.

Tableau 44. Détermination du rendement de l'extraction.

Fraction massique DEHP (mg/kg), valeur mesurée	Fraction massique DEHP (mg/kg), Valeur certifiée	Incertitude élargie, Fraction massique DEHP (mg/kg)	Rapport (valeur mesurée/ valeur certifiée)	Rendement d'extraction
866,7	876	76	0,9892	98,92%
865,4	876	76	0,9878	98,78%
948	876	76	1,0822	108,22%
Moyenne			1,0198	101,98%
Ecart-type			0,0541	5,41%

Le rendement de la méthode d'extraction utilisée pour l'extraction des phtalates à partir des jouets en PVC (THF et bain ultrason) était jugé satisfaisant (101,98% ± 5,41%).

II.3.4. Vérification de l'effet matrice

Les résultats de l'analyse des différentes concentrations des phtalates avec et sans matrice sont résumés dans le tableau 45.

Tableau 45. Vérification de l'effet matrice.

Concentration DEHP (µg/mL)	Concentration DINP (µg/mL)	Avec matrice (PVC)		Sans matrice (PVC)	
		Réponse DEHP (Rapport E/EI)	Réponse DINP (Rapport E/EI)	Réponse DEHP (Rapport E/EI)	Réponse DINP (Rapport E/EI)
0,5	2,5	0,142	0,032	0,126	0,034
5	25	1,439	0,610	1,4908386	0,627
11	55	3,573	1,669	3,52666537	1,620

CHAPITRE II. RESULTATS

Les courbes de la réponse (rapport E/EI) en fonction de la concentration des phtalates étudiés (DEHP et DINP) avec et sans matrice (PVC) sont présentées sur la figure 39 et la figure 40.

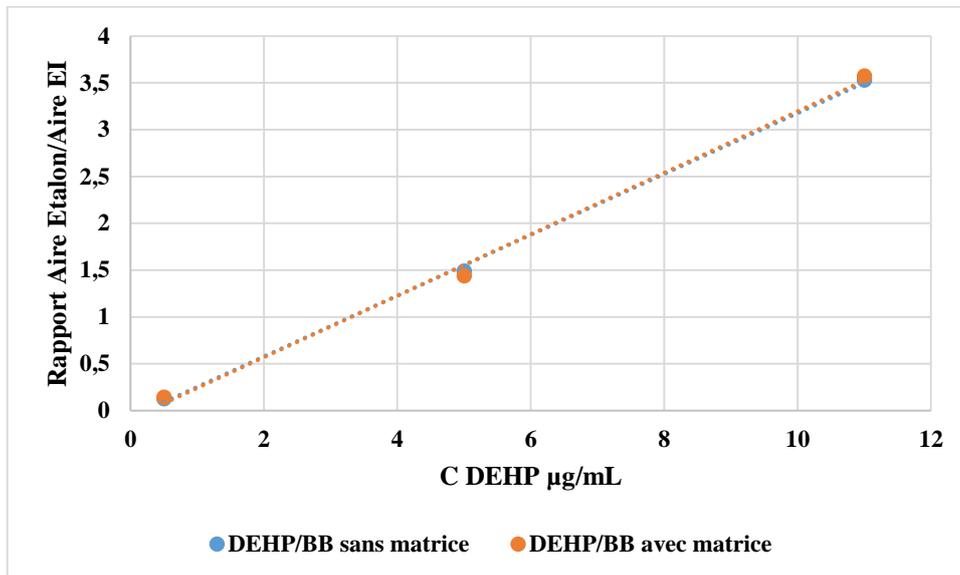


Figure 39. Courbe de réponse DEHP / EI avec et sans matrice (PVC).

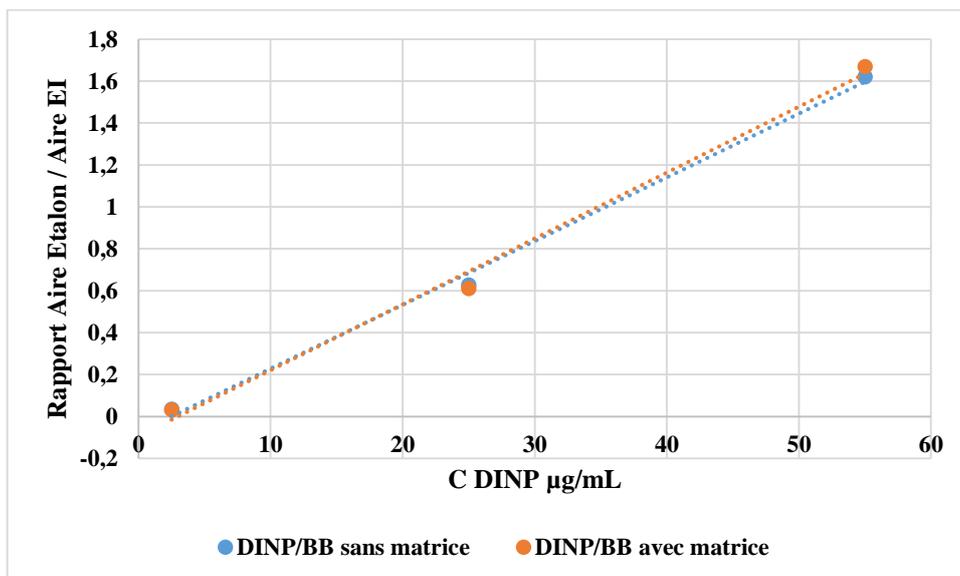


Figure 40. Courbe de réponse DINP / EI avec et sans matrice (PVC).

Afin de rechercher un éventuel effet matrice, une comparaison des droites de régression a été réalisée par l'application du test *t* de *Student* pour la comparaison des ordonnées à l'origine avec zéro et la comparaison des pentes des droites d'ajustement (Tableau 46).

CHAPITRE II. RESULTATS

Tableau 46. Tests statistiques pour la vérification de l'effet matrice.

Tests statistiques	Résultats DEHP	Résultats DINP	Valeurs théoriques/ constantes statistiques au risque 5%
Test de comparaison des ordonnées à l'origine avec zéro (test <i>t</i> de Student)	0,0954	0,4619	$t = 2,05$
Test de comparaison des pentes des droites d'ajustement (test <i>t</i> de Student)	0,6246	1,2231	

La réalisation du test *t* de Student a produit une valeur inférieure à 2,05. En conséquence, nous avons établi la conclusion qu'il n'existe pas de différence significative dans la réponse entre les situations où la matrice (PVC) est présente ou absente, indiquant ainsi l'absence d'un effet matrice.

II.4. VALIDATION DE LA METHODE DE DOSAGE DES PHTALATES (DEHP, DINP) DANS LES JOUETS EN PLASTIQUE

II.4.1. Sélectivité

L'analyse du blanc matrice en l'absence des phtalates analysés en mode SIM et SCAN a produit les chromatogrammes illustrés dans les figures 41 et 42.

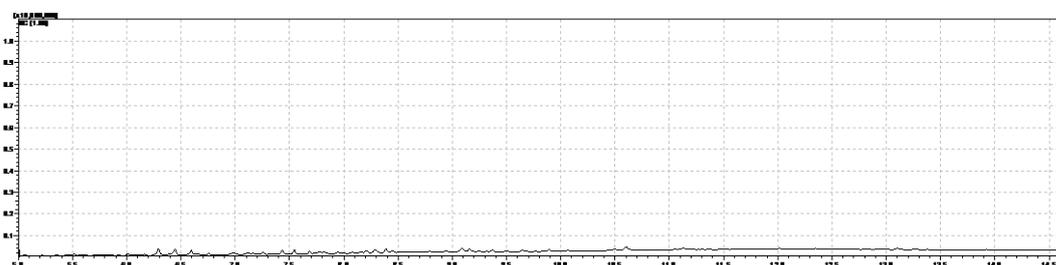


Figure 41. Chromatogramme du blanc matrice (PVC) en mode SCAN.

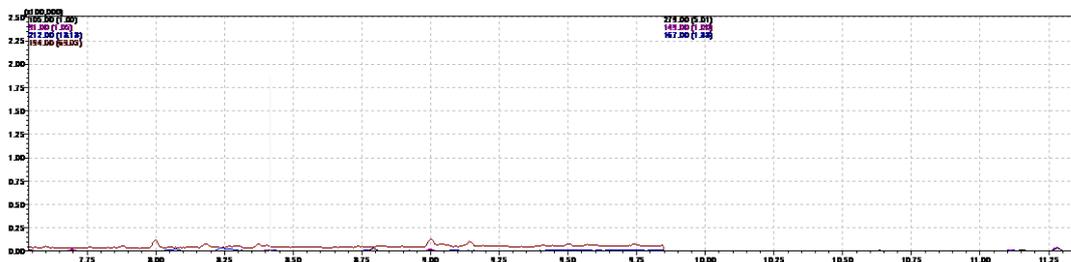


Figure 42. Chromatogramme du blanc matrice (PVC) en mode SIM.

Sur les chromatogrammes obtenus, nous avons observé l'absence de pics correspondant aux temps de rétention des molécules d'intérêt, soit 11,27min pour le DEHP, 12,26min pour le DINP et 8,42min pour le BB.

La comparaison avec le chromatogramme d'un mélange de DEHP, DINP et EI (11µg/mL-55µg/mL-1µg/mL respectivement) est illustrée dans la figure 43.

CHAPITRE II. RESULTATS

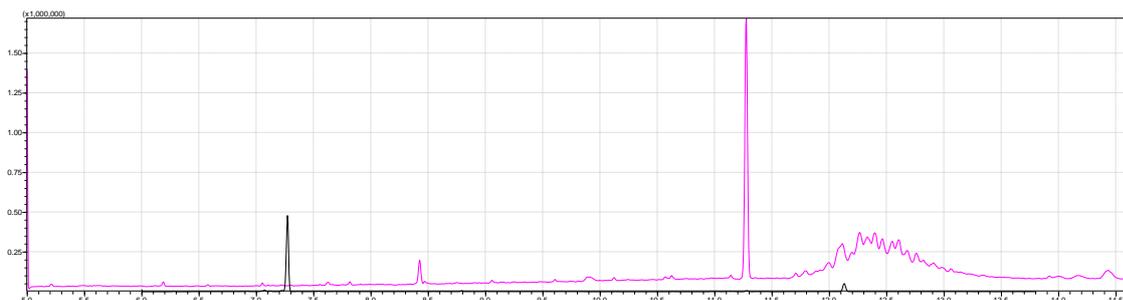


Figure 43. Comparaison des chromatogrammes en mode SCAN (Blanc matrice vs. Mélange DEHP-DINP-EI (11 μ g/mL-55 μ g/mL-1 μ g/mL respectivement)).

Sur la base de ces résultats, nous avons conclu à la sélectivité de la méthode analytique utilisée pour le dosage des phtalates d'intérêt (DEHP et DINP) dans les jouets en PVC.

II.4.2. Fonction de réponse (courbe d'étalonnage)

La fonction de réponse a été établie en analysant six niveaux de concentrations différentes de DEHP (0,5, 1, 2, 5, 7, 11 μ g/mL) et de DINP (2,5, 5, 10, 25, 35, 55 μ g/mL). La concentration de l'EI était de 1 μ g/mL.

Les résultats de DEHP sont représentés dans le tableau 47.

Tableau 47. Réponses obtenus avec six concentrations de DEHP (μ g/mL).

C DEHP (μ g/ml)	Aire étalon	Aire EI	Rapport (Aire étalon/Aire EI)
0,5	3644	28910	0,1260
1	9250	31529	0,2934
2	17672	31541	0,5603
5	35781	24673	1,4502
7	56237	25548	2,2012
11	90794	25745	3,5267

La figure 44 montre la courbe d'étalonnage de DEHP.

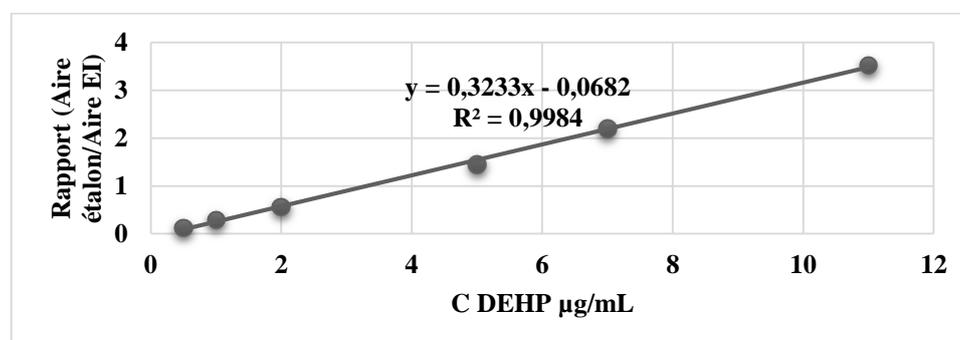


Figure 44. Courbe d'étalonnage de DEHP.

CHAPITRE II. RESULTATS

La courbe d'étalonnage de DEHP obtenue a été jugée linéaire avec :

- Un coefficient de détermination (R^2) de 0,9984 proche de 1.
- Un coefficient de corrélation r (la racine carrée de R^2 , permet la mesure de la proportion de variation chez la variable dépendante qui est expliquée par l'équation de régression) de 0,9991 compris entre [0,75-1], donc il existe une forte corrélation positive entre la concentration de DEHP et le rapport (Aire étalon / Aire EI).
- Une équation de régression : $y = 0,3233x - 0,0682$.
- Une pente de 0,3233.
- Ordonnés à l'origine : (- 0.0682).

La fonction de réponse de DINP est présentée dans le tableau 48.

Tableau 48. Réponses obtenus avec six concentrations de DINP ($\mu\text{g/mL}$).

C DINP ($\mu\text{g/mL}$)	Aire étalon	Aire EI	Rapport (Aire étalon/ Aire EI)
2,5	984	28910	0,0340
5	4169	31529	0,1322
10	7070	31541	0,2241
25	20905	24673	0,6573
35	25690	25548	1,0055
55	41705	25745	1,6199

La figure 45 montre la courbe d'étalonnage de DINP.

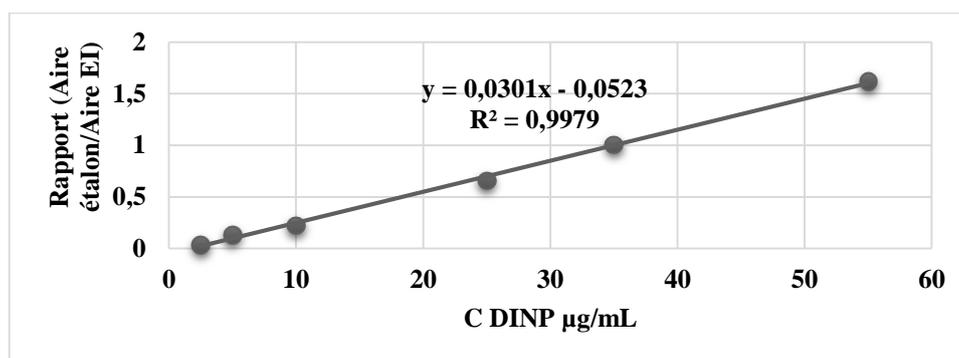


Figure 45. Courbe d'étalonnage de DINP.

La courbe d'étalonnage de DINP obtenue a été jugée linéaire avec :

- Un coefficient de détermination (R^2) de 0,9979 proche de 1.
- Un coefficient de corrélation (r) de 0,9989 compris entre [0,75-1], donc il existe une forte corrélation positive entre la concentration de DEHP et le rapport (Aire étalon / Aire EI).
- Une équation de régression : $y = 0,0301x - 0,0523$.

CHAPITRE II. RESULTATS

- Une pente de 0,0301.

- Ordonnés à l'origine : (- 0.0523).

II.4.3. Estimation de la limite de quantification et la limite de détection

Pour la détermination de la LQ, nous avons adopté la méthode qui consiste à faire intervenir un facteur de risque de 10, qu'on doit multiplier par l'écart type de blanc.

Le calcul du seuil de détection fait intervenir un facteur multiplicateur, facteur de risque, qui est fixé par défaut à trois qu'on doit multiplier par l'écart type calculé à partir de 10 mesures d'un blanc.

Les résultats de l'analyse du blanc sont résumés dans le tableau 49.

Tableau 49. Calcul de LD et LQ à partir de l'écart-type des blancs.

Essai blanc	C DEHP (µg/mL)	C DINP (µg/mL)
1	0,3334	-0,4179
2	0,3941	-0,4783
3	0,3131	-0,4205
4	0,3619	0,0066
5	0,4354	-0,5367
6	0,3398	-0,4566
7	0,3199	0,0040
8	0,3199	-0,3783
9	0,3199	-0,7783
10	0,3199	-0,4367
Moyenne	0,3568	-0,3893
Ecart-type des bancs	0,0402	0,2238
LD µg/mL	0,1206	0,6715
LQ µg/mL	0,4021	2,2385

La LQ était de 0,4µg/mL pour le DEHP et de 2,24µg/mL pour le DINP.

La LD était de 0,12µg/mL pour le DEHP et de 0,67µg/mL pour le DINP.

En comparaison avec les concentrations habituellement dosées en routine pour les phtalates (la norme réglementaire de 0,1% correspond à une concentration de 2,88µg/mL en phtalates), les limites de quantification de 0,5µg/mL pour le DEHP et 2,5µg/mL pour le DINP peuvent être considérées comme satisfaisantes. Cependant, il est crucial de confirmer leur justesse et leur fidélité avant de les valider définitivement.

CHAPITRE II. RESULTATS

II.4.4. Courbes des trois jours de validation

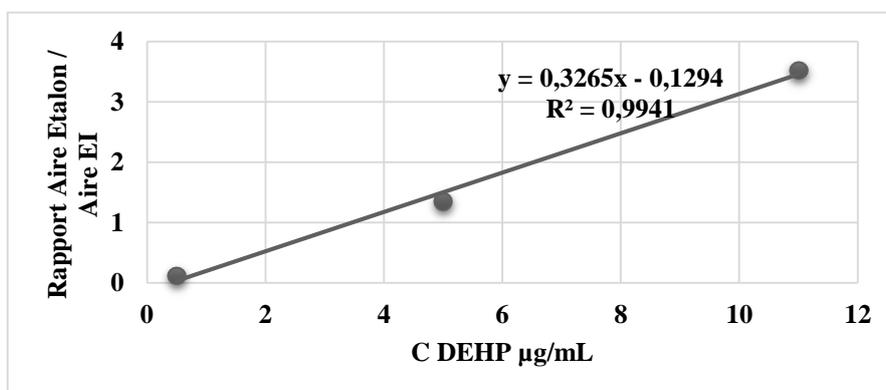
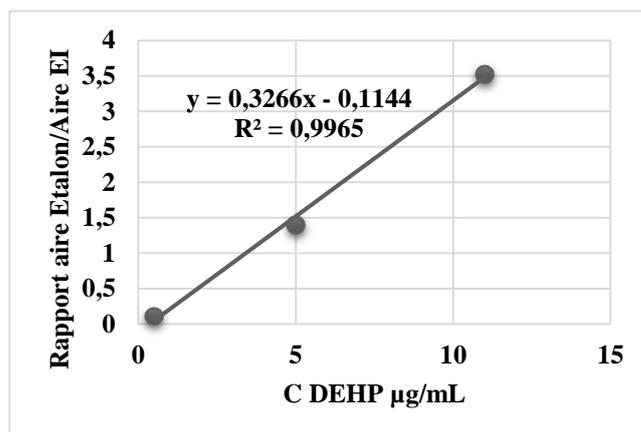
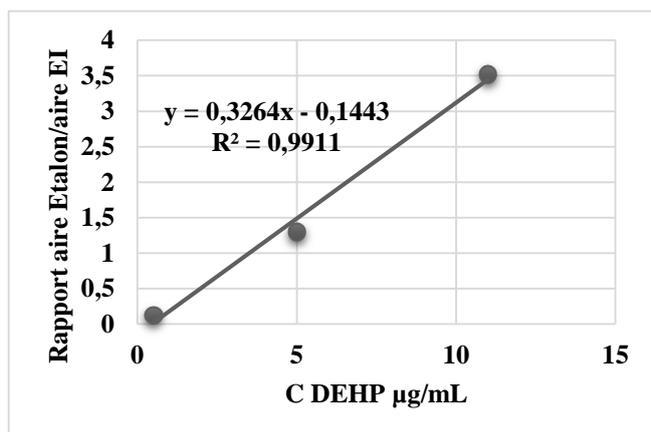
a. Premier jour

Le tableau 50 résume les résultats des deux gammes d'étalonnage et la gamme d'étalonnage moyenne du DEHP obtenus le premier jour.

Tableau 50. Courbes d'étalonnage de DEHP du premier jour (J₁).

C DEHP (µg/mL)	Première courbe d'étalonnage (J ₁)	Deuxième courbe d'étalonnage (J ₁)	Courbe d'étalonnage moyenne (J ₁)
	Aire E/ Aire EI	Aire E/ Aire EI	Aire E/ Aire EI moyen
0,5	0,1260	0,1160	0,1210
5	1,3002	1,4008	1,3505
11	3,5267	3,5282	3,5274

Les figures 46, 47 et 48 présentent les deux courbes d'étalonnage de DEHP du premier jour ainsi que la courbe moyenne.



CHAPITRE II. RESULTATS

Le tableau 51 résume les résultats des deux gammes d'étalonnage et la gamme d'étalonnage moyenne de DINP obtenus le premier jour.

Tableau 51. Courbes d'étalonnage de DINP du premier jour (J₁).

C DINP (µg/mL)	Première courbe d'étalonnage (J ₁)	Deuxième courbe d'étalonnage (J ₁)	Courbe d'étalonnage moyenne (J ₁)
	Aire E/ Aire EI	Aire E/ Aire EI	Aire E/ Aire EI moyen
2,5	0,0340	0,0335	0,0338
25	0,6473	0,6268	0,6370
55	1,6199	1,6199	1,6199

Les figures 49, 50 et 51 présentent les deux courbes d'étalonnage de DINP du premier jour ainsi que la courbe moyenne.

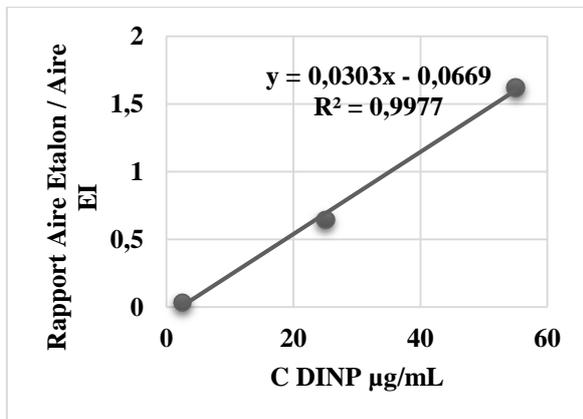


Figure 49. Première courbe d'étalonnage de DINP du premier jour (J₁).

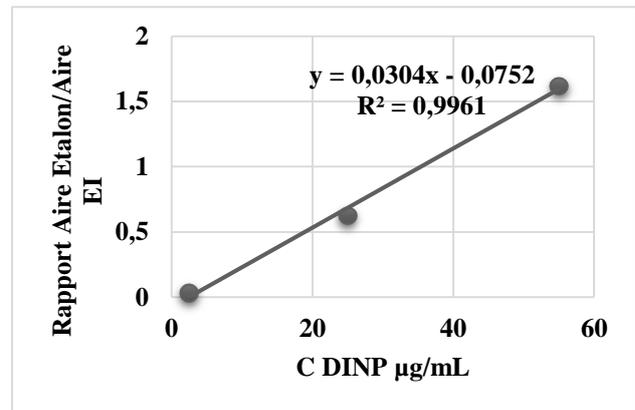


Figure 50. Deuxième courbe d'étalonnage de DINP du premier jour (J₁).

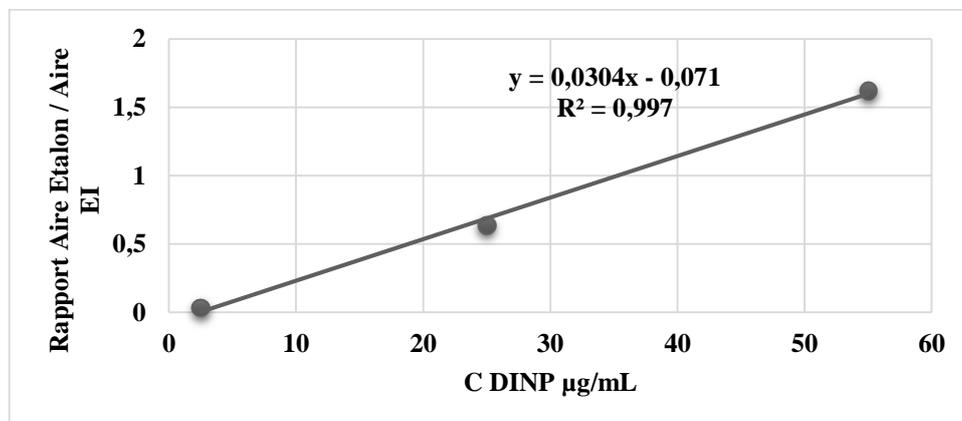


Figure 51. Courbe moyenne d'étalonnage de DINP du premier jour (J₁).

CHAPITR II. RESULTATS

b. Deuxième jour

Le tableau 52 résume les résultats des deux gammes d'étalonnage et la gamme d'étalonnage moyenne de DEHP obtenus le deuxième jour.

Tableau 52. Courbes d'étalonnage de DEHP du deuxième jour (J₂).

C DEHP (µg/mL)	Première courbe d'étalonnage (J ₂)	Deuxième courbe d'étalonnage (J ₂)	Courbe d'étalonnage moyenne (J ₂)
	Aire E/ Aire EI	Aire E/ Aire EI	Aire E/ Aire EI moyen
0,5	0,1162	0,1023	0,1096
5	1,3550	1,3441	1,3495
11	3,6535	3,6228	3,6382

Les figures 52, 53 et 54 présentent les deux courbes d'étalonnage de DEHP du J₂ ainsi que la courbe moyenne.

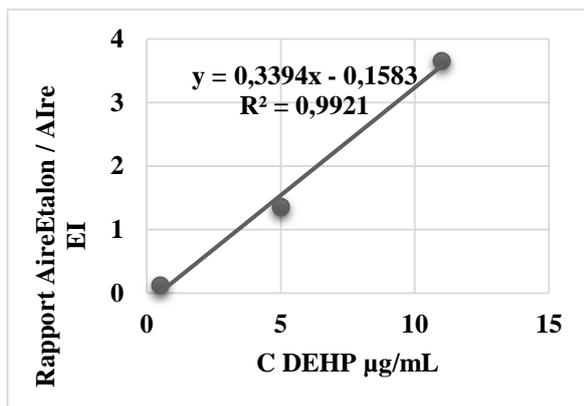


Figure 52. Première courbe d'étalonnage de DEHP du deuxième jour (J₂).

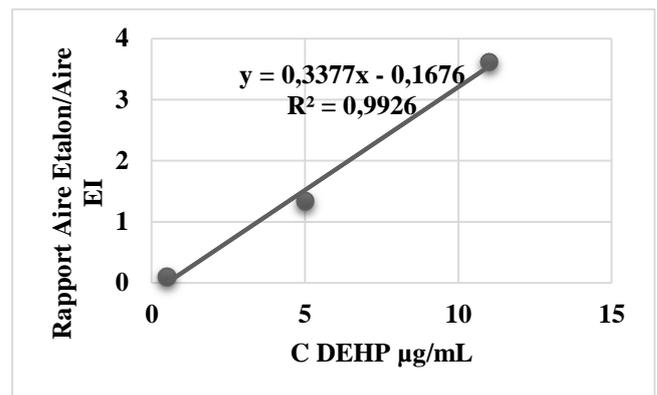


Figure 53. Deuxième courbe d'étalonnage de DEHP du deuxième jour (J₂).

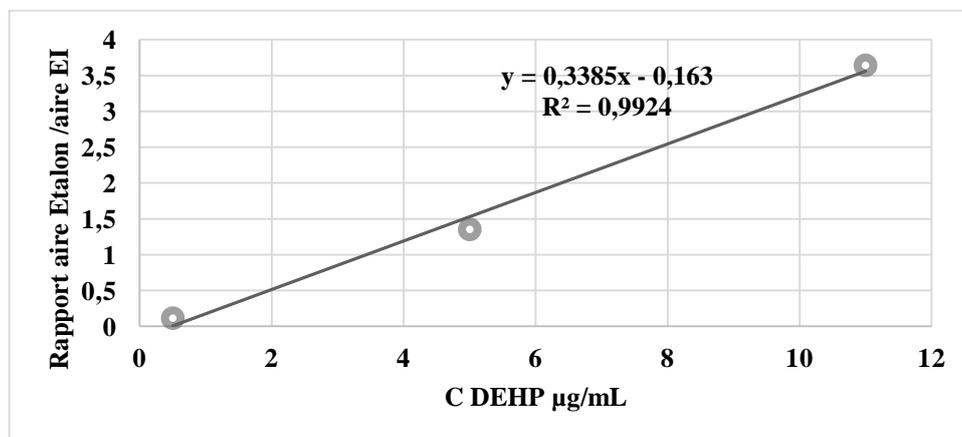


Figure 54. Courbe moyenne d'étalonnage de DEHP du deuxième jour (J₂).

CHAPITRE II. RESULTATS

Le tableau 53 résume les résultats des deux gammes d'étalonnage et la gamme d'étalonnage moyenne de DINP obtenus le deuxième jour.

Tableau 53. Courbes d'étalonnage de DINP du deuxième jour (J₂).

C DINP µg/mL	Première courbe d'étalonnage (J ₂)	Deuxième courbe d'étalonnage (J ₂)	Courbe d'étalonnage moyenne (J ₂)
	Aire E/ Aire EI	Aire E/ Aire EI	Aire E/ Aire EI moyen
2,5	0,0330	0,0342	0,0336
25	0,6171	0,5962	0,6067
55	1,6489	1,6598	1,6544

Les figures 55, 56 et 57 présentent les deux courbes d'étalonnage de DINP du J₂ ainsi que la courbe moyenne.

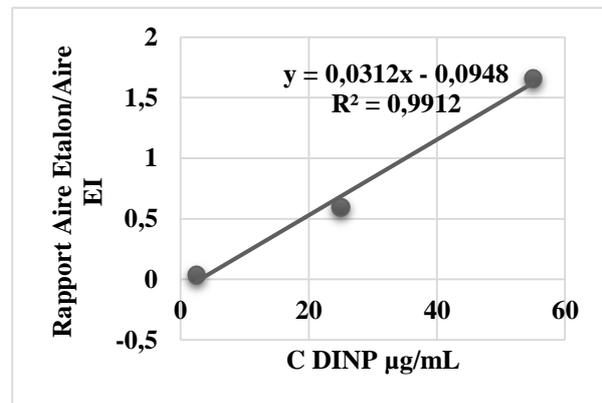
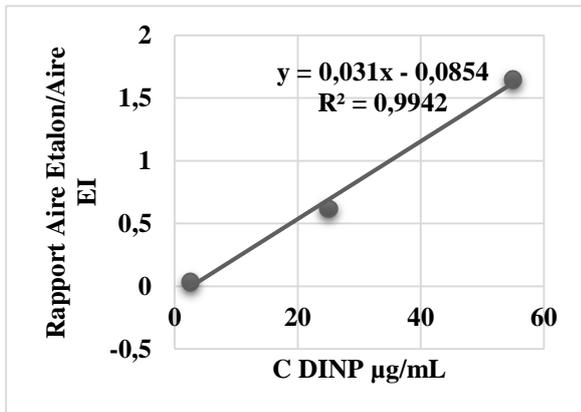


Figure 55. Première courbe d'étalonnage de DINP du deuxième jour (J₂).

Figure 56. Deuxième courbe d'étalonnage de DINP du deuxième jour (J₂).

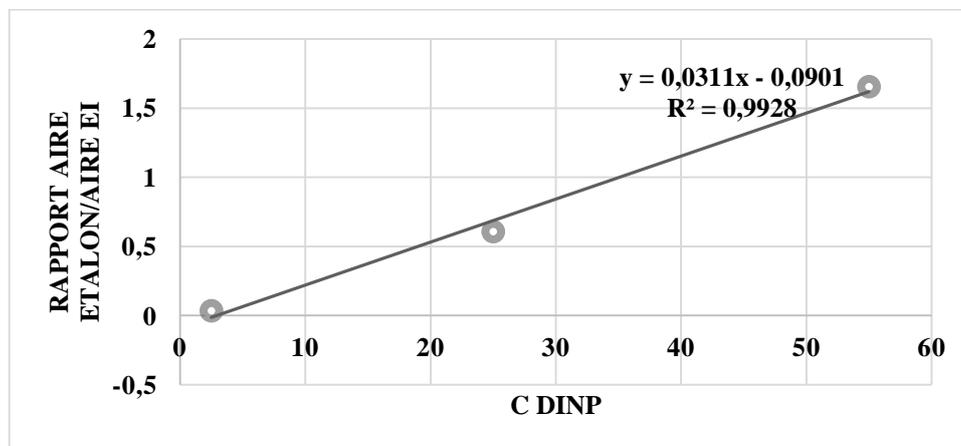


Figure 57. Courbe moyenne d'étalonnage de DINP du deuxième jour (J₂).

CHAPITRE II. RESULTATS

c. Troisième jour

Le tableau 54 résume les résultats des deux gammes d'étalonnage et la gamme d'étalonnage moyenne du DEHP obtenus le troisième jour de validation.

Tableau 54. Courbes d'étalonnage de DEHP du troisième jour (J₃).

C DEHP (µg/mL)	Première courbe d'étalonnage (J ₃)	Deuxième courbe d'étalonnage (J ₃)	Courbe d'étalonnage moyenne (J ₃)
	Aire E/ Aire EI	Aire E/ Aire EI	Aire E/ Aire EI moyen
0,5	0,1057	0,1237	0,1147
5	1,4510	1,3995	1,4252
11	3,5086	3,5096	3,5091

Les figures 58, 59 et 60 présentent les deux courbes d'étalonnage de DEHP du J₃ ainsi que la courbe moyenne.

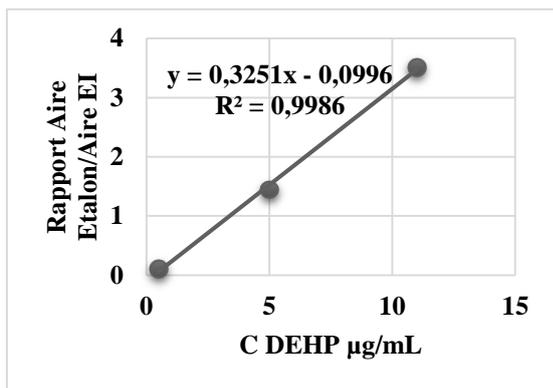


Figure 58. Première courbe d'étalonnage de DEHP du troisième jour (J₃).

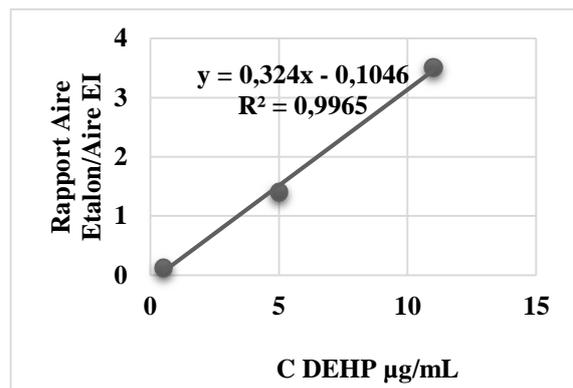


Figure 59. Deuxième courbe d'étalonnage de DEHP du troisième jour (J₃).

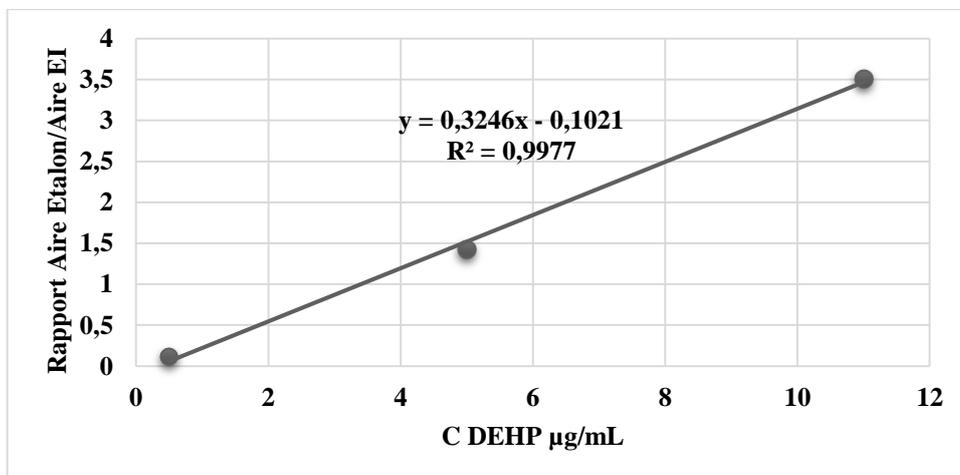


Figure 60. Courbe moyenne d'étalonnage de DEHP du troisième jour (J₃).

CHAPITRE II. RESULTATS

Le tableau 55 résume les résultats des deux gammes d'étalonnage et la gamme d'étalonnage moyenne de DINP obtenus le jour J₃.

Tableau 55. Courbes d'étalonnage de DINP du troisième jour (J₃).

C DINP (µg/mL)	Première courbe d'étalonnage (J ₃)	Deuxième courbe d'étalonnage (J ₃)	Courbe d'étalonnage moyenne (J ₃)
	Aire E/ Aire EI	Aire E/ Aire EI	Aire E/ Aire EI moyen
2,5	0,0330	0,0351	0,03409
25	0,6664	0,6868	0,6766
55	1,6690	1,6289	1,6489

Les figures 61, 62 et 63 présentent les deux courbes d'étalonnage de DINP du J₃ ainsi que la courbe moyenne.

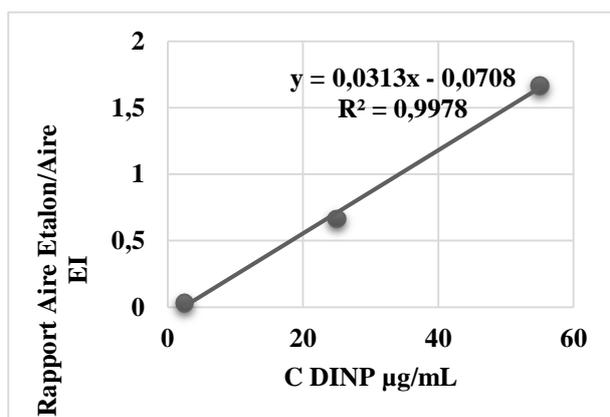


Figure 61. Première courbe d'étalonnage de DINP du troisième jour (J₃).

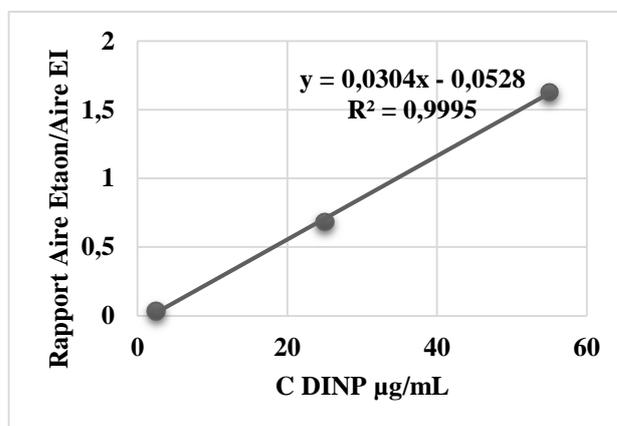


Figure 62. Deuxième courbe d'étalonnage de DINP du troisième jour (J₃).

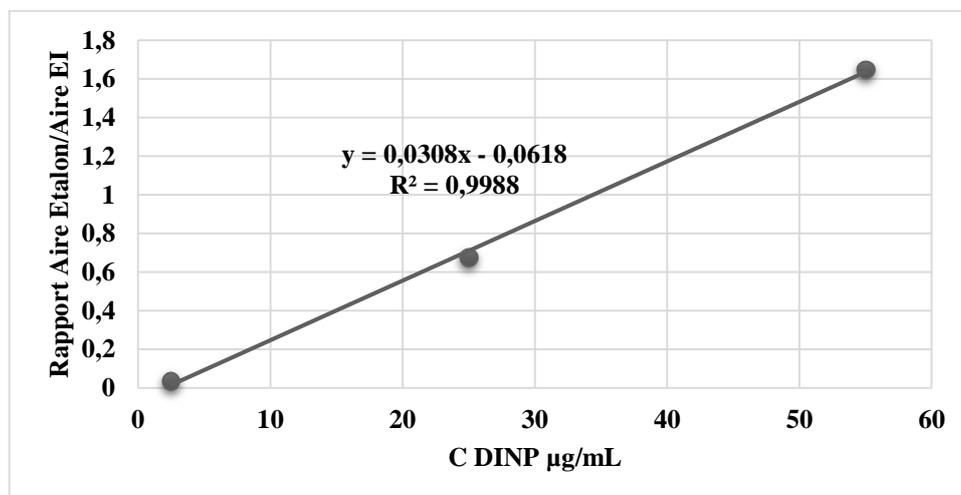


Figure 63. Courbe moyenne d'étalonnage de DINP du troisième jour (J₃).

CHAPITRE II. RESULTATS

d. Comparaison des trois courbes d'étalonnage

Le tableau 56 récapitule les résultats de trois jours de validation de DEHP.

Tableau 56. Gammes d'étalonnage de DEHP des trois jours
(Pentes, coefficients de corrélation et coefficient de détermination).

C DEHP (µg/ml)	Réponse (Rapport Aire Etalon/Aire EI)		
	Série 1	Série 2	Série 3
0,5	0,1260	0,1162	0,1057
	0,1160	0,1023	0,1237
5	1,300	1,3550	1,4510
	1,401	1,3441	1,3995
11	3,5267	3,6535	3,5086
	3,5282	3,6228	3,5096
Equation de la courbe moyenne	$y = 0,3265x - 0,1294$	$y = 0,3385x - 0,163$	$y = 0,3246x - 0,1021$
Coefficient de corrélation (r)	0,997	0,996	0,998
Coefficient de Détermination (R ²)	0,9941	0,9924	0,9977
Pente a	0,3265	0,3385	0,3246

La figure 64 rassemble les trois courbes d'étalonnage de DEHP.

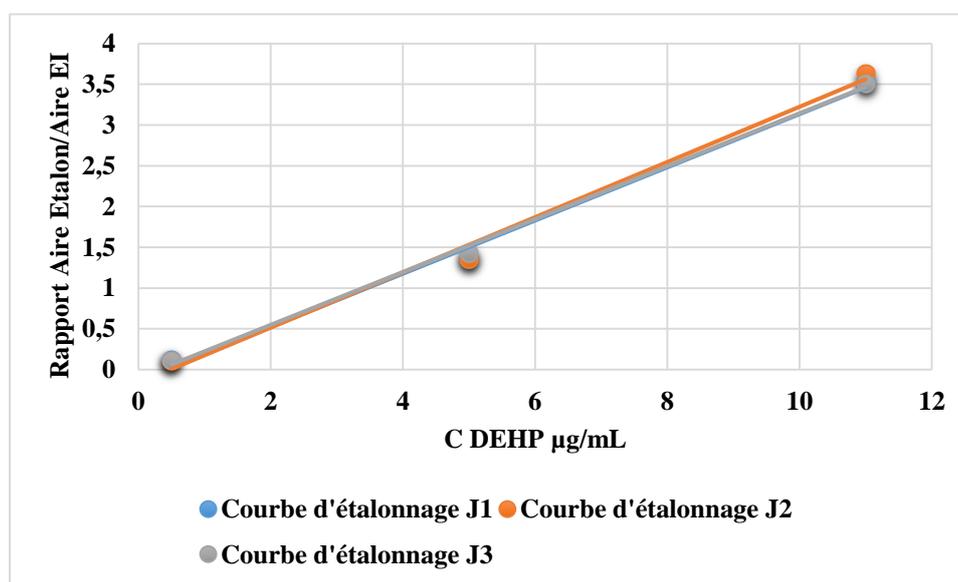


Figure 64. Courbes d'étalonnage des trois jours de validation de DEHP.

CHAPITRE II. RESULTATS

Le tableau 57 récapitule les résultats de trois jours de validation de DINP.

Tableau 57. Gammes d'étalonnage de DINP des trois jours
(Pentes, coefficients de corrélation et coefficient de détermination).

Concentration DINP ($\mu\text{g/mL}$)	Réponse (Rapport Aire Etalon/Aire EI)		
	Série 1	Série 2	Série 3
2,5	0,0340	0,0330	0,0330
	0,0335	0,0342	0,0351
25	0,6473	0,6171	0,6664
	0,6268	0,5962	0,6868
55	1,6199	1,6489	1,6690
	1,6199	1,6598	1,6289
Equation de la courbe moyenne	$y = 0,0304x - 0,071$	$y = 0,0311x - 0,0901$	$y = 0,0308x - 0,0618$
Coefficient de corrélation (r)	0,998	0,996	0,999
Coefficient de Détermination (R^2)	0,997	0,9928	0,9988
Pente a	0,0304	0,0311	0,0308

La figure 65 regroupe les trois courbes d'étalonnage de DINP.

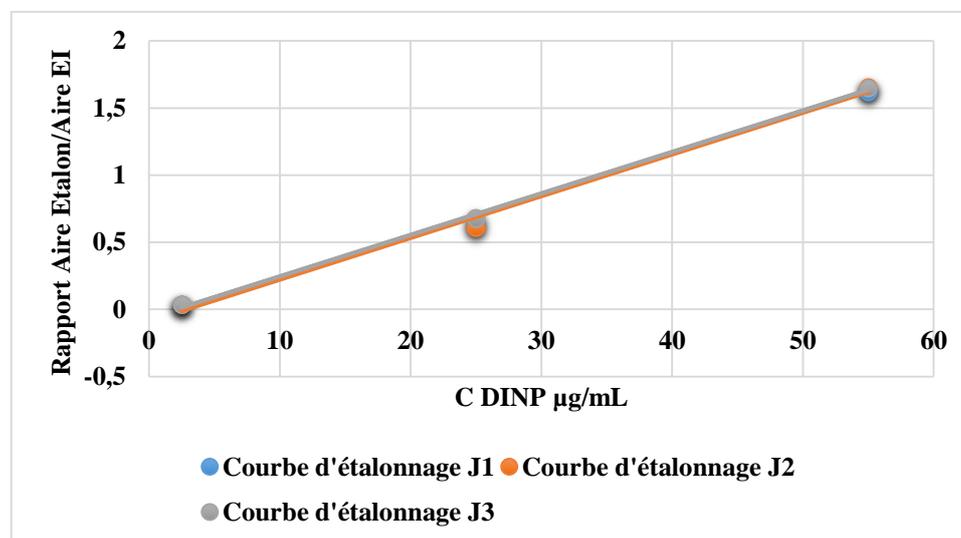


Figure 65. Courbes d'étalonnage des trois jours de validation de DINP.

II.4.5. Linéarité

Les concentrations calculées devaient se faire sur la courbe d'étalonnage du jour même (série) et non pas sur la courbe moyenne des trois jours. On calculait ainsi un modèle d'étalonnage pour chaque jour et non pas un modèle global.

CHAPITRE II. RESULTATS

Le tableau 58 montre les concentrations calculées des standards de validation de DEHP des trois jours de validation.

Tableau 58. Concentrations calculées des standards de validation de DEHP des trois jours de validation.

C Introduite x_i ($\mu\text{g/mL}$)		C calculée $\mu\text{g/mL}$ y_i		C calculée $\mu\text{g/mL}$ y_i		C calculée $\mu\text{g/mL}$ y_i	Moyenne ($\mu\text{g/ml}$)
0,5	SERIE 1 (J1)	0,514	SERIE 2 (J2)	0,563	SERIE 3 (J3)	0,531	0,514
		0,541		0,500		0,494	
		0,471		0,494		0,516	
5	SERIE 1 (J1)	4,904	SERIE 2 (J2)	5,315	SERIE 3 (J3)	5,498	5,233
		4,857		5,286		5,259	
		5,350		5,362		5,266	
11	SERIE 1 (J1)	11,389	SERIE 2 (J2)	11,159	SERIE 3 (J3)	11,243	11,240
		11,237		10,797		11,482	
		11,326		11,253		11,271	

La courbe de linéarité de DEHP exprimant la concentration introduite en fonction de la concentration calculée a ainsi été établie (Figure 66).

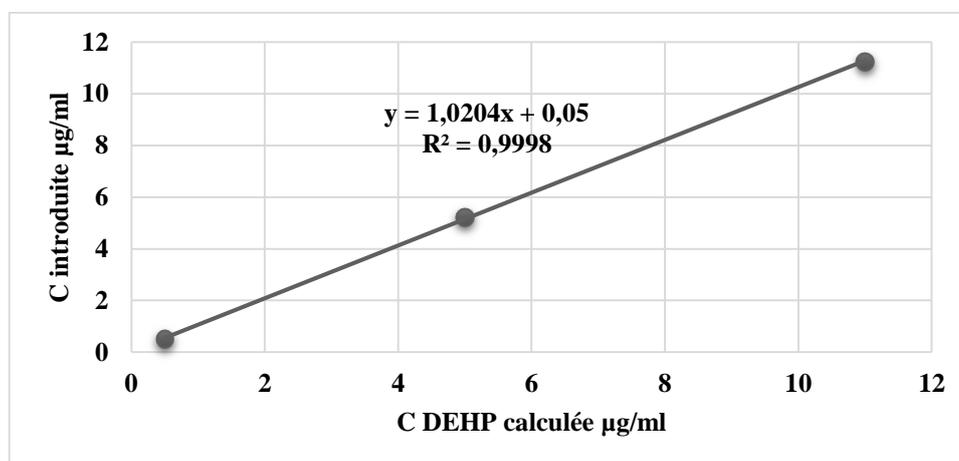


Figure 66. Courbe de linéarité de DEHP.

Nous avons observé une linéarité satisfaisante de DEHP dans notre plage de dosage allant de 0,5 à 11 $\mu\text{g/mL}$, avec une pente ($a = 1,0204$) et un coefficient de détermination ($R^2 = 0,9998$) se rapprochant de 1. La valeur de l'ordonnée à l'origine b était de 0,05.

CHAPITRE II. RESULTATS

Le tableau 59 présente les concentrations calculées des standards de validation de DINP des trois jours de validation.

Tableau 59. Concentrations calculées des standards de validation de DINP des trois jours de validation.

C introduite x_i ($\mu\text{g/mL}$)		C calculée ($\mu\text{g/mL}$) y_i		C calculée ($\mu\text{g/mL}$) y_i		C calculée ($\mu\text{g/mL}$) y_i	Moyenne ($\mu\text{g/mL}$)
2,5	SERIE 1 (J ₁)	2,421	SERIE 2 (J ₂)	2,63	SERIE 3 (J ₃)	2,19	2,525
		2,375		2,72		2,69	
		3,036		2,29		2,37	
25	SERIE 1 (J ₁)	22,561	SERIE 2 (J ₂)	26,97	SERIE 3 (J ₃)	26,14	24,376
		26,412		22,33		22,94	
		24,011		26,23		21,79	
55	SERIE 1 (J ₁)	57,04	SERIE 2 (J ₂)	54,94	SERIE 3 (J ₃)	58,41	55,443
		54,78		55,09		54,66	
		55,68		54,55		53,84	

La courbe de linéarité de DINP exprimant la concentration introduite en fonction de la concentration calculée a ainsi été établie (Figure 67).

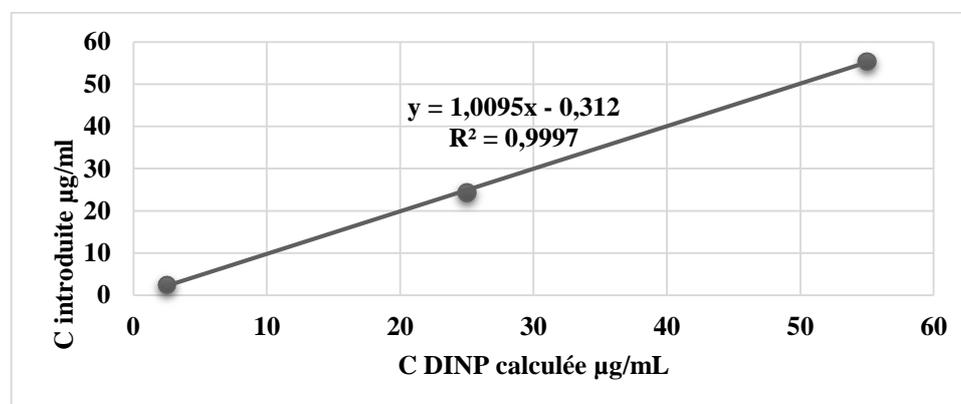


Figure 67. Courbe de linéarité de DINP.

Nous avons observé une linéarité satisfaisante de DINP dans notre plage de dosage, s'étendant de 2,5 à 55 $\mu\text{g/mL}$, avec une pente ($a = 1,0095$) et un coefficient de détermination ($R^2 = 0,9997$) se rapprochant de 1. La valeur de l'ordonnée à l'origine b était de $-0,312$.

II.4.6. Exactitude

a. La justesse (biais)

- Recouvrement et recouvrement moyen

Les données ayant servi pour les calculs des recouvrements de DEHP des trois jours

CHAPITRE II. RESULTATS

de validation sont résumées dans le tableau 60.

Tableau 60. Calcul des recouvrements de DEHP.

X_i (µg/mL)	Concentration calculée (µg/mL)			μ_i (µg/mL)	$R(\%)_i$	Limite d'acceptation
	J1	J2	J3			
0,5	0,514	0,563	0,531	0,514	102,80%	[85%-115%]
	0,541	0,500	0,494			
	0,471	0,494	0,516			
5	4,904	5,315	5,498	5,233	104,66%	
	4,857	5,286	5,259			
	5,350	5,362	5,266			
11	11,389	11,159	11,243	11,240	102,18%	
	11,237	10,797	11,482			
	11,326	11,253	11,271			
Recouvrement moyen					103,21%	

Les données ayant servi pour les calculs des recouvrements des trois jours de validation de DINP sont résumées dans le tableau 61.

Tableau 61. Calcul des recouvrements de DINP.

X_i (µg/mL)	Concentration calculée (µg/mL)			μ_i (µg/mL)	$R(\%)_i$	Limite d'acceptation
	J1	J2	J3			
2,5	2,421	2,63	2,19	2,525	101,00%	[85%-115%]
	2,375	2,72	2,69			
	3,036	2,29	2,37			
25	22,561	26,97	26,14	24,376	97,5%	
	26,412	22,33	22,94			
	24,011	26,23	21,79			
55	57,04	54,94	58,41	55,443	100,81%	
	54,78	55,09	54,66			
	55,68	54,55	53,84			
Recouvrement moyen					99,77%	

Nous avons constaté que le taux de recouvrement des phtalates analysés (DEHP et DINP) était conforme aux critères de validation des procédures analytiques (SFSTP). Aucune des valeurs individuelles n'a dépassé les limites d'acceptation de 85% à 115%.

- **Biais absolu et biais relatif**

Les données ayant servi pour les calculs de biais des trois jours de validation de DEHP sont résumées dans le tableau 62.

CHAPITRE II. RESULTATS

Tableau 62. Biais absolu et biais relatif de DEHP.

X_i ($\mu\text{g/mL}$)	Concentration calculée ($\mu\text{g/mL}$)			μ_i ($\mu\text{g/mL}$)	B_i ($\mu\text{g/mL}$)	$B(\%) i$	Limite d'acceptation
	J ₁	J ₂	J ₃				
0,5	0,514	0,563	0,531	0,514	0,014	2,80%	< 15%
	0,541	0,500	0,494				
	0,471	0,494	0,516				
5	4,904	5,315	5,498	5,233	0,233	4,66%	
	4,857	5,286	5,259				
	5,350	5,362	5,266				
11	11,389	11,159	11,243	11,240	0,240	2,18%	
	11,237	10,797	11,482				
	11,326	11,253	11,271				
Biais relatif moyen						3,21%	

Les données ayant servi pour les calculs de biais des trois jours de validation de DINP sont résumées dans le tableau 63.

Tableau 63. Biais absolu et biais relatif de DINP.

X_i ($\mu\text{g/mL}$)	Concentration calculée ($\mu\text{g/mL}$)			μ_i ($\mu\text{g/mL}$)	B_i ($\mu\text{g/mL}$)	$B(\%) i$	Limite d'acceptation
	J ₁	J ₂	J ₃				
2,5	2,421	2,63	2,19	2,525	0,025	1,00%	< 15%
	2,375	2,72	2,69				
	3,036	2,29	2,37				
25	22,561	26,97	26,14	24,376	-0,624	-2,50%	
	26,412	22,33	22,94				
	24,011	26,23	21,79				
55	57,04	54,94	58,41	55,443	0,443	0,81%	
	54,78	55,09	54,66				
	55,68	54,55	53,84				
Biais relatif moyen						-0,23%	

Après avoir calculé le recouvrement et le biais pour les deux phtalates, DEHP et DINP, nous avons conclu que la méthode analytique est juste.

b. Fidélité – Précision

Les données ayant servi pour les calculs de fidélité des trois jours de validation de DEHP sont résumées dans le tableau 64.

CHAPITRE II. RESULTATS

Tableau 64. Estimation de la fidélité des trois séries de DEHP (écarts types et CV).

X_i ($\mu\text{g/mL}$)	Concentration calculée ($\mu\text{g/mL}$)			μ_i ($\mu\text{g/mL}$)	σ_R	σ_{FI}	CV_R %	CV_{FI} %	Limite d'acceptation
	J_1	J_2	J_3						
0,5	0,514	0,563	0,531	0,514	3,20 $4 E^{-02}$	3,204 E^{-02}	6,23	6,23	< 15%
	0,541	0,500	0,494						
	0,471	0,494	0,516						
5	4,904	5,315	5,498	5,233	1,77 $1E^{-01}$	2,231 E^{-01}	3,38	4,26	
	4,857	5,286	5,259						
	5,350	5,362	5,266						
11	11,389	11,159	11,243	11,240	1,64 $2E^{-01}$	1,992 E^{-01}	1,46	1,77	
	11,237	10,797	11,482						
	11,326	11,253	11,271						

σ_R Ecart type de la répétabilité (variations intra-jour) ;

σ_{FI} Ecart type de la fidélité intermédiaire (variations inter-jour).

Les coefficients de répétabilité (CV_R) et les coefficients de la fidélité intermédiaire (CV_{FI}) étaient en conformité avec les limites d'acceptation fixées (< 15%).

Les données ayant servi pour les calculs de fidélité des trois jours de validation de DINP sont résumées dans le tableau 65.

Tableau 65. Estimation de la fidélité des trois séries de DINP (écarts types et CV).

X_i ($\mu\text{g/mL}$)	Concentration calculée ($\mu\text{g/mL}$)			μ_i ($\mu\text{g/mL}$)	σ_R	σ_{FI}	CV_R %	CV_{FI} %	Limite d'acceptation
	J_1	J_2	J_3						
2,5	2,421	2,63	2,19	2,525	2,887 E^{-01}	2,887 E^{-01}	11,43	11,43	< 15%
	2,375	2,72	2,69						
	3,036	2,29	2,37						
25	22,561	26,97	26,14	24,376	2,242 E^{+00}	2,242 E^{+00}	9,20	9,20	
	26,412	22,33	22,94						
	24,011	26,23	21,79						
55	57,04	54,94	58,41	55,443	1,561 E^{+00}	1,561 E^{+00}	2,82	2,82	
	54,78	55,09	54,66						
	55,68	54,55	53,84						

Les coefficients de répétabilité (CV_R) et les coefficients de la fidélité intermédiaire (CV_{FI}) étaient en conformité avec les limites d'acceptation fixées (< 15%).

II.4.7. Sensibilité

L'application du test de *Fisher* sur la courbe moyenne des trois jours de validation de DEHP et de DINP a produit les résultats présentés dans le tableau 66.

CHAPITRE II. RESULTATS

Tableau 66. Test de l'existence d'une pente significative (Fisher).

Tests statistiques	Résultats DEHP	Résultats DINP	Valeurs théoriques/ constantes statistiques au risque 5%
Test de l'existence d'une pente significative (Fisher)	3746,57	5667,29	F=4,67

En interprétant les résultats du test statistique (Fisher), nous avons conclu que notre méthode analytique était sensible.

II.4.8. Profil d'exactitude

Les données du profil d'exactitude de DEHP sont synthétisées dans le tableau 67.

Tableau 67. Profil d'exactitude de la technique de dosage de DEHP.

Critères de validation DEHP	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
Concentration moyenne introduite	0,500	5,000	11,000
Concentration moyenne calculée	0,514	5,233	11,240
Biais absolu	0,014	0,233	0,240
Biais relatif (%)	2,80%	4,66%	2,18%
Recouvrement (%)	102,80%	104,66%	102,18%
Ecart type de répétabilité	3,204E ⁻⁰²	1,771E ⁻⁰¹	1,642E ⁻⁰¹
Ecart type de précision intermédiaire	3,204E ⁻⁰²	2,231E ⁻⁰¹	1,992E ⁻⁰¹
RSD de répétabilité (%)	6,23%	3,38%	1,46%
RSD de précision intermédiaire (%)	6,23%	4,26%	1,77%
Limite de tolérance 85% inférieure	0,460	4,820	10,876
Limite de tolérance 85% supérieure	0,568	5,646	11,603
Limite de tolérance 85% inférieure (%)	-8,00%	-3,61%	-1,12%
Limite de tolérance 85% supérieure (%)	13,60%	12,93%	5,48%

La figure 68 montre le profil d'exactitude du dosage de DEHP.

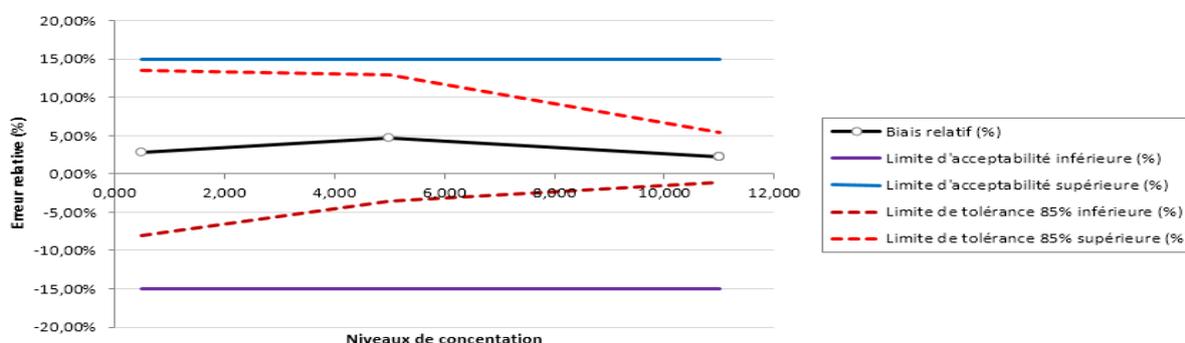


Figure 68. Profil d'exactitude de la technique de dosage de DEHP.

Les intervalles de tolérance de tous les standards de validation étaient inclus dans les limites

CHAPITRE II. RESULTATS

±15%, la méthode de dosage de DEHP dans les jouets en PVC a été jugée exacte.

Les données du profil d'exactitude de DINP sont synthétisées dans le tableau 68.

Tableau 68. Profil d'exactitude de la technique de dosage de DINP.

Critères de validation DINP	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
Concentration moyenne introduite	2,500	25,000	55,000
Concentration moyenne calculée	2,525	24,376	55,443
Biais absolu	0,025	-0,624	0,443
Biais relatif (%)	1,00%	-2,50%	0,81%
Recouvrement (%)	101,00%	97,50%	100,81%
Ecart type de répétabilité	2,887E ⁻⁰¹	2,242E ⁺⁰⁰	1,561E ⁺⁰⁰
Ecart type de précision intermédiaire	2,887E ⁻⁰¹	2,242E ⁺⁰⁰	1,561E ⁺⁰⁰
RSD de répétabilité (%)	11,43%	9,20%	2,82%
RSD de précision intermédiaire (%)	11,43%	9,20%	2,82%
Limite de tolérance 70% inférieure	2,187	21,750	53,615
Limite de tolérance 70% supérieure	2,863	27,002	57,272
Limite de tolérance 70% inférieure (%)	-12,52%	-13,00%	-2,52%
Limite de tolérance 70% supérieure (%)	14,53%	8,01%	4,13%

La figure 69 montre le profil d'exactitude du dosage de DINP.

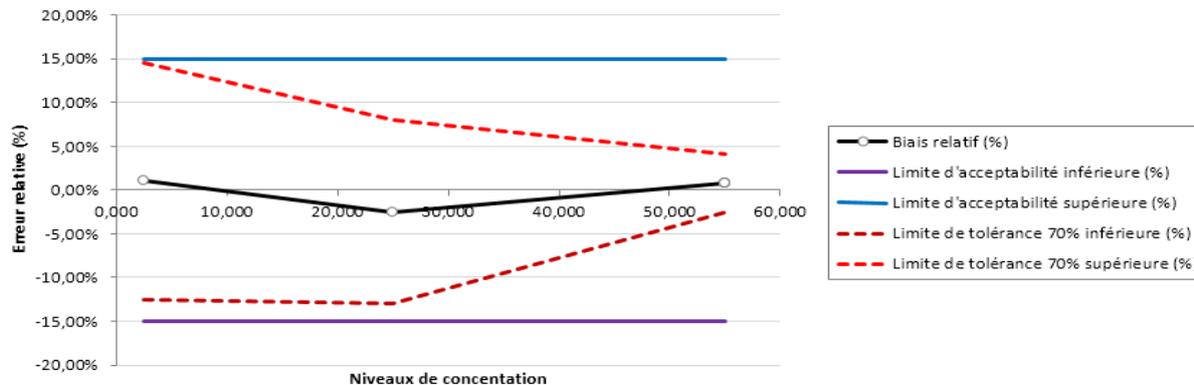


Figure 69. Profil d'exactitude de la technique de dosage de DINP.

Les intervalles de tolérance de tous les standards de validation étaient inclus dans les limites ±15%, la méthode de dosage de DINP dans les jouets en PVC a été jugée exacte.

Le tableau 69 résume les performances analytiques de la technique de dosage des deux phtalates, DEHP et DINP, dans les jouets en PVC par la méthode GC-MS.

CHAPITRE II. RESULTATS

Tableau 69. Performances analytiques de la technique de dosage de DEHP/DINP dans les jouets en PVC par GC-MS.

Critères de validation	Performances DEHP	Performances DINP
Rendement d'extraction (%)	101,98 ± 5,41	/
Temps de rétention tr (min)	11,27	12,26
Fonction de réponse	Linéaire	
LQ (µg/mL)	0,40	2,24
LD (µg/mL)	0,12	0,67
Linéarité		
Equation de la droite	$y = 1,0204x + 0,05$	$y = 1,0095x - 0,312$
Coefficient de corrélation	0,9998	0,9998
Justesse		
Recouvrement (%)	102,18 à 104,66	97,50 à 101,00
Biais relatif (%)	2,18 à 4,66	-2,50 à 1,00
Fidélité		
CV répétabilité (%)	1,46 à 6,23	2,82 à 11,43
CV fidélité intermédiaire (%)	1,77 à 6,23	2,82 à 11,43
Intervalle de dosage (µg/mL)	[0,5 - 11]	[2,5 - 55]

II.5. DETERMINATION DES TAUX DE PHTALATES (DEHP/ DINP) DANS LES JOUETS EN PVC SOUPLE (ESSAIS DE COMPOSITION)

L'étape d'identification de la nature chimique du polymère a mis en lumière que parmi les 271 jouets initialement sélectionnés, 149 d'entre eux étaient en PVC souple, représentant ainsi une fréquence relative de 55%. Ces 149 jouets en PVC souple ont ensuite été soumis à un essai de composition afin de quantifier les taux des deux phtalates, le DEHP et le DINP, et de les comparer avec les normes établies par la réglementation internationale.

II.5.1. Analyse descriptive

a. Détermination des taux de phtalates dans les jouets en PVC souple

Les résultats de l'analyse des jouets en PVC souple (n=149) ont été classés en fonction de la présence d'un ou des deux phtalates (DEHP et/ou DINP), en distinguant les jouets avec des concentrations dépassant les LD de DEHP et de DINP (indiquant ainsi la présence de phtalates dans le jouet) et les jouets avec des concentrations inférieures aux LD.

Parmi les 149 jouets analysés, 135 jouets (90,6%) ont révélé des concentrations de DEHP dépassant les limites de détection (0,12 µg/ml, équivalent à 0,0042%). Cela signifie que 90,6% des jouets analysés contenaient de DEHP.

En parallèle, 55 jouets (36,9%) parmi les 149 analysés ont montré des concentrations de DINP dépassant les limites de détection (0,67 µg/ml, équivalent à 0,023%). Ainsi, 36,9% des jouets analysés contenaient de DINP.

CHAPITRE II. RESULTATS

Parmi les jouets en PVC (n=149), 135 d'entre eux contenaient au moins un des phtalates analysés (DEHP et/ou DINP), ce qui représente 90,6% de l'échantillon.

Après l'analyse des jouets par GC-MS, une distinction a été faite entre les jouets dont les concentrations dépassaient les LQ de DEHP et de DINP, et ceux dont les concentrations se situaient en dessous de ces limites. Parmi les 149 jouets analysés, 129 jouets (86,6%) ont révélé des teneurs de DEHP dépassant les limites de quantification (0,40 µg/ml, équivalent à 0,014%). Pour le DINP, 44 jouets (29,5%) parmi les 149 analysés ont montré des teneurs dépassant les limites de quantification (2,24 µg/ml, équivalent à 0,078%).

Les résultats de quantification, exprimés en pourcentage de phtalate par poids des jouets avec l'écart type associé, pour les 149 jouets, ont été répartis en fonction des taux moyen de chaque phtalate quantifié (DEHP/DINP).

Le tableau 70 présente, pour chaque phtalate quantifié, les moyennes obtenues (Moyenne ± Écart type), la valeur maximale (Max), la valeur minimale (Min) et le pourcentage des jouets parmi les 149 analysés, dont la teneur d'au moins un phtalate (DEHP/DINP) était supérieure à la limite de quantification.

Tableau 70. Taux moyen des phtalates (DEHP, DINP) dans les jouets en PVC (n=149).

	DEHP	DINP
Phtalate détecté (>LD)	135 jouets (90,6%)	55 jouets (36,9%)
Phtalate quantifié (>LQ)	129 jouets (86,6%)	44 jouets (29,5%)
Moyenne % (p/p) ± Ecart type	7,63 ± 9,80	4,69 ± 10,14
IC 95%	[5,92-9,34]	[1,60-7,78]
Médiane %	1,09	0,88
Mode %	0,07	0,16
Variance %	96,14	102,77
Minimum %	0,02	0,15
Maximum %	36,20	35,42
Percentiles %	25	0,13
	75	13,99

Les graphiques présentent la distribution des indicateurs numériques pour chaque phtalate (DEHP/DINP) sous forme de boîtes à moustaches (Figure 70 et 71).

CHAPITRE II. RESULTATS

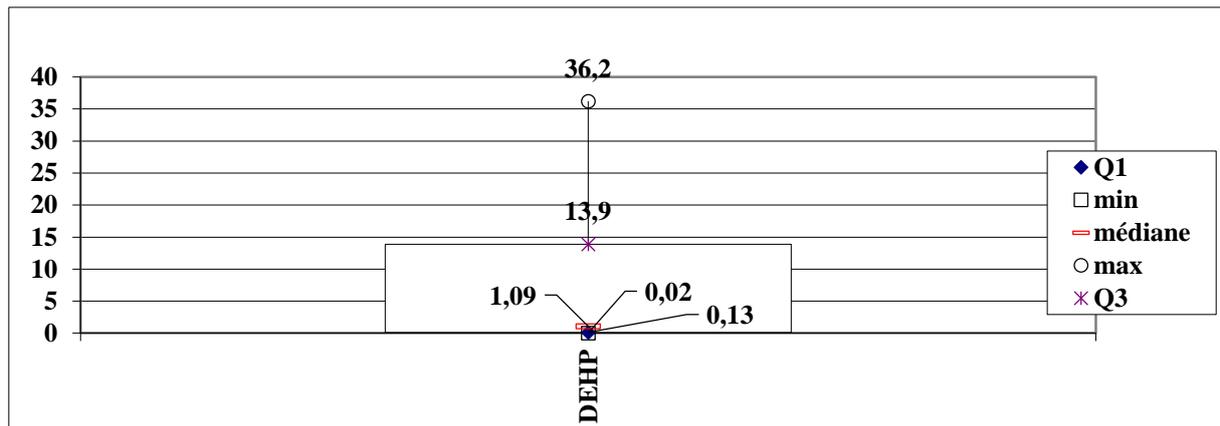


Figure 70. Représentation graphique de la distribution du taux de DEHP quantifié (n=129).

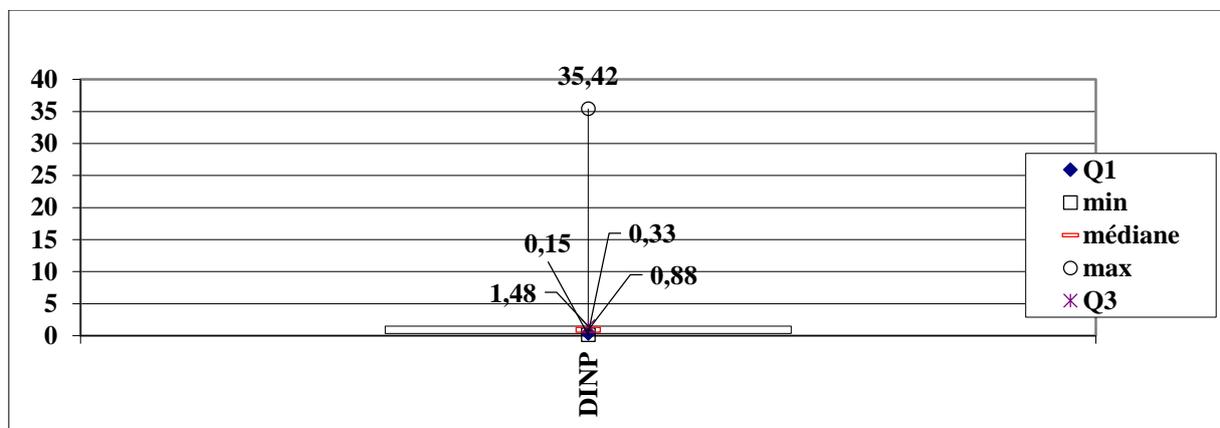


Figure 71. Représentation graphique de la distribution du taux de DINP quantifié (n=44).

Parmi les jouets en PVC (n=149), 129 d'entre eux contenaient une valeur quantifiable d'au moins un des phtalates type DEHP ou DINP, représentant ainsi 86,6% de l'échantillon.

Parmi les 149 jouets en PVC souple analysés, 55 d'entre eux, soit 36,9%, contenaient les deux phtalates simultanément à des concentrations supérieures aux limites de détection de chaque phtalate (0,12µg/mL, équivalent à 0,0042% pour le DEHP et 0,67µg/mL, équivalent à 0,023% pour le DINP).

Parmi ces 55 jouets, 44 d'entre eux contenaient un taux quantifiable de ces deux phtalates, représentant ainsi 29,53% de l'échantillon.

Il est important de noter que la détection et la quantification de DINP s'accompagnaient systématiquement de la détection et de la quantification de DEHP dans tous les cas analysés, tandis que l'inverse n'était pas toujours vrai.

Le tableau 71 présente la moyenne, l'écart type, la médiane, le mode et les quartiles de chaque phtalate dans ces jouets.

CHAPITRE II. RESULTATS

Tableau 71. Taux moyen des phtalates (DEHP et DINP) dans les jouets en PVC contenant les deux phtalates ensemble à des teneurs quantifiables (n=44).

	DEHP	DINP
Moyenne % ± Ecart type	4,33 ± 6,43	4,69 ± 10,14
IC 95%	[2,38-6,30]	[1,60-7,78]
Médiane %	0,51	0,88
Mode %	0,07	0,16
Variance %	41,35	102,77
Minimum %	0,02	0,15
Maximum %	25,77	35,42
Percentiles %	25	0,08
	75	7,39

Les graphiques (Figure 72) représentent la distribution des indicateurs numériques pour chaque phtalate (DEHP et DINP) dans les jouets qui contenaient les deux phtalates ensemble, présentés sous forme de boîtes à moustache (n=44).

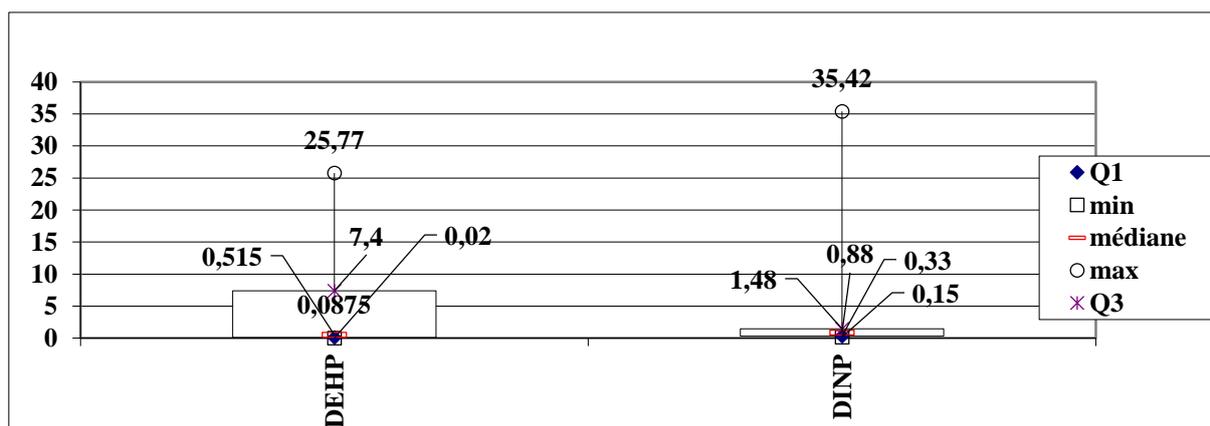


Figure 72. Représentation graphique de la distribution de DEHP et DINP dans les jouets contenant les deux phtalates ensemble (n=44).

La représentation graphique présente les concentrations des deux phtalates dans chaque jouet où la détection et la quantification des deux ont été réalisées (Figure 73).

CHAPITRE II. RESULTATS

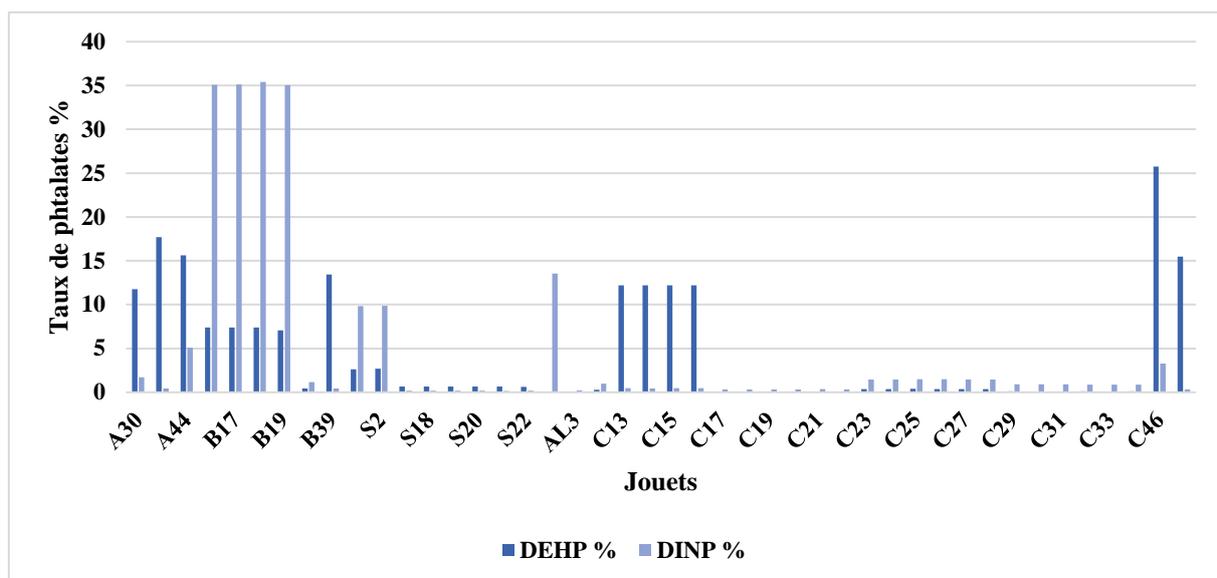


Figure 73. Représentation graphique de la teneur en DEHP et DINP dans chaque jouet contenant les deux phtalates ensemble (n=44).

Dans la plupart des jouets analysés contenant les deux phtalates simultanément, la concentration de l'un des deux était faible tandis que celle de l'autre était plus élevée. Dans 19 des jouets examinés, la quantité totale des deux phtalates analysés était inférieure à 1%, représentant ainsi 43,2%.

b. Comparaison des taux de phtalates aux normes internationales

Sur l'ensemble des jouets analysés et qui ont révélé un taux de DEHP quantifiable (n=129), 98 jouets contenaient le DEHP avec des teneurs dépassant la norme européenne, américaine et canadienne, limitée à 0,1%. Cela représente 75,97% des 129 jouets testés.

Nous avons déduit que 65,8% des jouets en PVC souple analysés dans leur ensemble (n=149) ne respectaient pas les normes en termes de teneur en DEHP. Ces jouets ont été qualifiés non conformes.

La concentration moyenne de DEHP était de 10,03%, avec un écart-type de 10,13%. La valeur maximale observée était de 36,20%, tandis que la valeur minimale était de 0,13%.

Notre étude a mis en évidence des concentrations de DEHP très variables dans les jouets pour enfants, le pourcentage massique le plus élevé mesuré (36,20% pour le DEHP) étant plus de 362 fois supérieur à la limite autorisée dans de nombreux pays.

Sur l'ensemble des jouets en PVC souple analysés, qui ont révélé un taux de DINP quantifiable (n=44), les 44 jouets contenaient du DINP avec des concentrations dépassant la norme européenne, américaine et canadienne limitée à 0,1%, représentant ainsi 100% de ces jouets.

CHAPITRE II. RESULTATS

Nous avons conclu que 29,5% de l'ensemble des jouets en PVC souple analysés (n=149) étaient non conformes en termes de teneur en DINP.

La moyenne de DINP dans les jouets non conformes était de 4,69%, avec un écart-type de 10,14%. La valeur maximale observée était de 35,42%, tandis que la valeur minimale était de 0,15%. Le pourcentage massique le plus élevé mesuré (35,42%) étant plus de 354 fois supérieur à la limite autorisée dans de nombreux pays.

Parmi les jouets en PVC (n=149), 129 d'entre eux contenaient une valeur quantifiable d'au moins un des phtalates type DEHP ou DINP. Parmi ces jouets (soit n= 129), le taux d'au moins un des phtalates analysés a dépassé la norme européenne, américaine et canadienne, limitée à 0,1%, dans 112 jouets analysés, représentant ainsi 86,82%.

Dans l'ensemble des jouets en PVC (n=149), ces jouets non conforme représentaient 75,2% de notre échantillon en PVC.

Nous avons conclu que 75,2% des 149 jouets en PVC analysés (soit 112 jouets) étaient non conformes en termes de taux d'au moins un des deux phtalates étudiés, à savoir le DEHP et le DINP.

Dans les jouets non conformes, le taux de chaque phtalate mesuré individuellement dépassait la limite de 0,1%. Dans les jouets non conformes, le taux total des phtalates (mesurés individuellement si le jouet ne contenait qu'un seul phtalate, ou ensemble dans le cas où le jouet contenait les deux phtalates) a dépassé 0,1%. La moyenne était de 10,63%, avec un écart-type de 11,69%. La valeur maximale observée était de 42,82%, tandis que la valeur minimale était de 0,15%.

Le tableau 72 présente les taux de phtalates (DEHP/DINP) dans les jouets non conformes.

Tableau 72. Taux moyen des phtalates (DEHP et/ou DINP) dans les jouets non conformes (n=112).

	DEHP	DINP	Somme (DEHP +DINP)	
Jouets non conformes (n=149)	98 (65,8%)	44 (29,5%)	112 (75,2%)	
Moyenne % (p/p) ± Ecart type	10,03 ± 10,13	4,69 ± 10,14	10,63 ± 11,69	
IC 95%	[7,98-12,08]	[1,60-7,78]	[8,43-12,84]	
Médiane %	7,33	0,88	7,26	
Mode %	0,13	0,16	0,17	
Ecart type %	10,13	10,14	11,69	
Variance %	102,70	102,77	136,64	
Minimum %	0,13	0,15	0,15	
Maximum %	36,20	35,42	42,82	
Percentiles %	25	0,46	0,33	0,80
	75	17,77	1,48	18,50

CHAPITRE II. RESULTATS

La figure 74 illustre la distribution des indicateurs numériques de DEHP dans les jouets non conformes, présentés sous forme de boîte à moustaches (n=98).

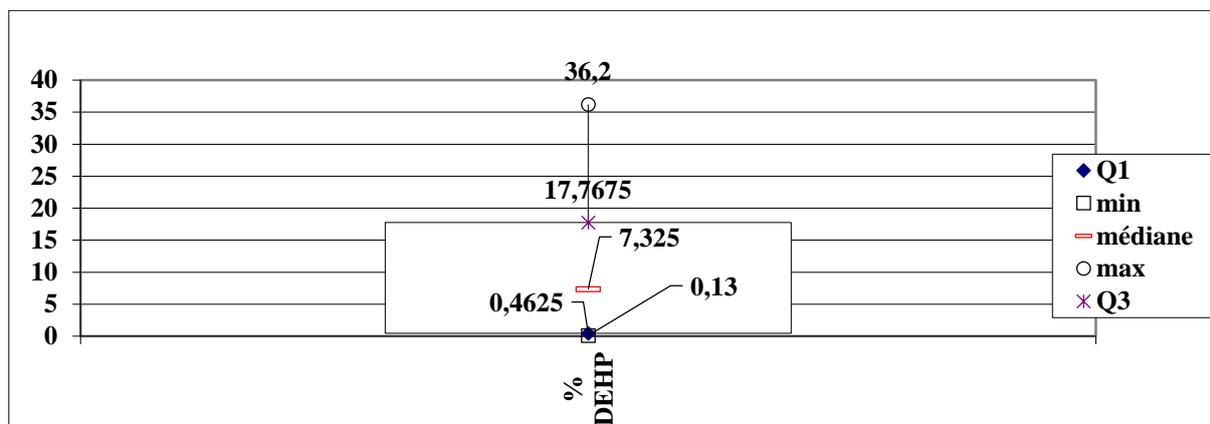


Figure 74. Représentation graphique de la distribution du taux de DEHP dans les jouets non conformes (n=98).

Le tableau 73 présente le type des 98 jouets non conformes en fonction de leur teneur en DEHP.

Tableau 73. Type de jouets non conformes en fonction du taux de DEHP (n=98).

Type	Fréquence	Pourcentage
Animaux	23	23,5%
Poupées	25	25,5%
Miniatures de personnage	1	1,0%
Ballons	7	7,1%
Jouets de bain	33	33,7%
Balles	7	7,1%
Accessoires	2	2,0%
Total	98	100,0%

Les animaux constituaient 23,5% de l'ensemble des jouets non conformes en termes de teneur en DEHP, soit 23 jouets. Les poupées représentaient 25,5%, soit 25 jouets. Les miniatures de personnages représentaient 1%, soit un seul jouet. Les ballons représentaient 7,1%, soit 7 ballons. Les jouets de bain constituaient la majeure partie avec 33,7%, soit 33 jouets. Les balles représentaient 7,1%, soit 7 balles, et les accessoires pour poupées représentaient 2%, soit 2 jouets.

La teneur en DEHP quantifiée dans l'ensemble des jouets analysés a été comparée avec la réglementation internationale sous forme d'histogramme (Figure 75).

CHAPITRE II. RESULTATS

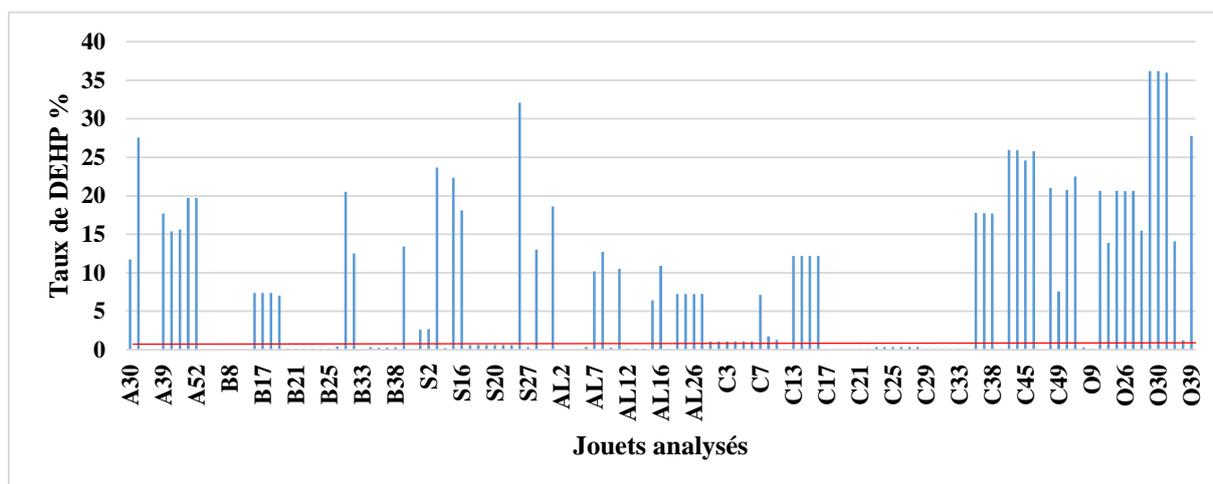


Figure 75. Comparaison du taux de DEHP dans les jouets analysés à la norme (0,1%).

La figure 76 illustre la distribution des indicateurs numériques du DINP dans les jouets non conformes, présentés sous forme de boîte à moustaches (n=44).

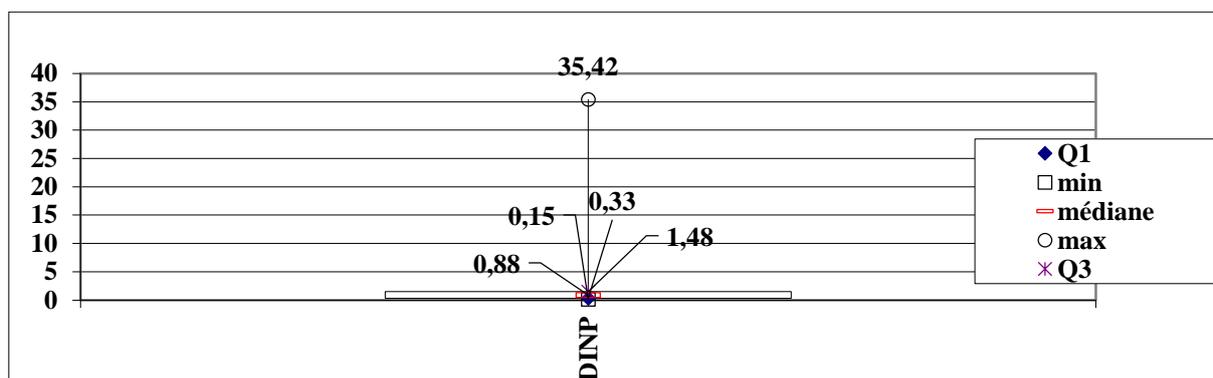


Figure 76. Représentation graphique de la distribution du taux de DINP dans les jouets non conformes (n=44).

Le tableau 74 présente le type des 44 jouets non conformes en fonction de leur teneur en DINP.

Tableau 74. Type de jouets non conformes en fonction du taux de DINP (n=44).

Type	Fréquence	Pourcentage
Animaux	27	61,4%
Poupées	4	9,1%
Ballons	3	6,8%
Jouets de bain	9	20,5%
Cubes	1	2,3%
Total	44	100,0%

CHAPITRE II. RESULTATS

Les animaux constituaient 61,4% de l'ensemble des jouets non conformes en termes de teneur en DINP, soit 27 jouets. Les poupées représentaient 9,1%, soit 4 jouets. Les ballons représentaient 6,8%, soit 3 ballons. Les jouets de bain représentaient 20,5%, soit 9 jouets, et les cubes représentaient 2,3%, soit 1 seul jouet.

La teneur en DINP quantifiée dans les jouets analysés a été comparée avec la réglementation internationale sous forme d'histogramme (Figure 77).

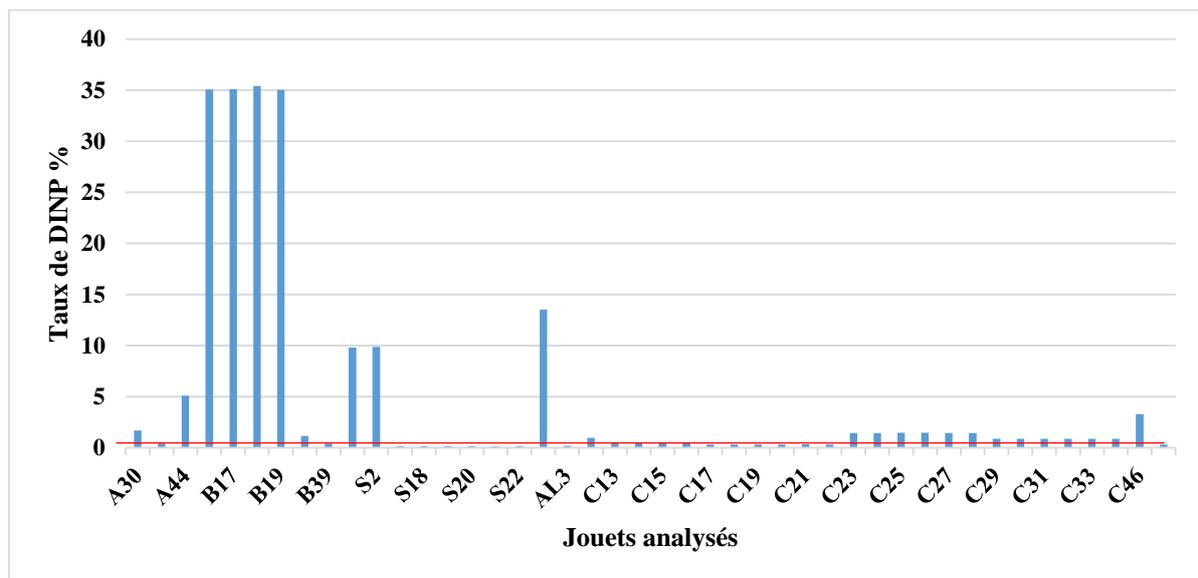


Figure 77. Comparaison du taux de DINP dans les jouets analysés à la norme (0,1%).

75,2% des 149 jouets en PVC analysés (soit 112 jouets) étaient non conformes en termes de taux d'au moins un des deux phtalates étudiés, à savoir le DEHP et le DINP.

Le type de ces jouets non conformes est représenté dans le tableau 75.

Tableau 75. Type de jouets non conformes par rapport à la teneur en phtalates (n=112).

Type	Fréquence	Pourcentage
Animaux	35	31,3%
Poupées	25	22,3%
Miniatures de personnage	1	0,9%
Ballons	8	7,1%
Jouets de bain	33	29,5%
Balles	7	6,3%
Cubes	1	0,9%
Accessoires	2	1,8%
Total	112	100,0%

Les animaux constituaient 31,3% de l'ensemble des jouets non conformes, soit 35 jouets. Les poupées représentaient 22,3%, soit 25 jouets. Les miniatures de personnages représentaient

CHAPITRE II. RESULTATS

0,9%, soit un seul jouet. Les ballons représentaient 7,1%, soit 8 ballons. Les jouets de bain constituaient 29,5%, soit 33 jouets. Les balles représentaient 6,3%, soit 7 balles, les cubes représentaient 0,9%, soit un seul cube, et les accessoires pour poupées représentaient 1,8%, soit 2 jouets.

Le tableau 76 représente le pourcentage de non-conformité dans chaque type de jouets en PVC.

Tableau 76. Pourcentage de non-conformité dans chaque type de jouets en PVC.

	Jouets analysé	Non conforme	Pourcentage
Animaux	37	35	94,6%
Poupées	33	25	75,7%
Miniatures de personnage	2	1	50%
Ballons	16	8	50%
Jouets de bain	48	33	68,7%
Balles	7	7	100%
Cubes	2	1	50%
Accessoires pour poupées	4	2	50%
Total	149	112	/

Parmi l'ensemble des animaux en PVC (n=37), 35 étaient non conformes, ce qui représente 94,6% de ce type de jouet. De même, 75,7% des 33 poupées incluses dans cette étude étaient non conformes, soit 25 au total. Les jouets de bain analysés présentaient une non-conformité de 68,7%, soit 33 jouets sur un total de 48. En ce qui concerne les ballons, les miniatures de personnage, les cubes et les accessoires inclus dans notre étude, la non-conformité par rapport à la teneur en phtalates étudiés, à savoir le DEHP et le DINP, était de 50%.

Toutes les balles en PVC analysés étaient non conformes.

Les jouets non conformes ont été répartis en fonction de leur type et de leur teneur en phtalates analysés, à savoir le DEHP et le DINP (Tableau 77a et 77b).

CHAPITRE II. RESULTATS

Tableau 77a. Distribution du taux des phtalates (DEHP et DINP) en fonction du type de jouets non conformes.

Type		DEHP %	DINP %	Somme %	
Animaux en plastique (n=35)	Non-conformité	23 jouets (65,71%)	27 jouets (77,14%)	15 jouets (42,86%)	
	Moyenne ± Ecart type	1,67 ± 4,79	0,60 ± 0,57	2,28 ± 4,76	
	Mode	0,07	0,04	0,17	
	Minimum	0,07	< LD	0,17	
	Maximum	19,75	1,71	19,75	
	Percentiles	25	0,08	0,15	0,41
		50	0,13	0,33	0,80
75		0,62	0,99	1,81	
Poupées (n=25)	Non-conformité	25 jouets (100%)	4 jouets (16%)	4 jouets (16%)	
	Moyenne ± Ecart type	17,75 ± 7,91	0,37 ± 1,18	18,13 ± 8,06	
	Mode	0,25	< LD	0,25	
	Minimum	0,25	< LD	0,25	
	Maximum	32,08	5,09	32,08	
	Percentiles	25	12,88	< LD	12,87
		50	18,13	< LD	19,74
75		24,13	0,005	24,13	
Miniatures de personnage (n=1)	Non-conformité	1 jouet (100%)	Aucun	1 jouet (100%)	
	Moyenne	27,78	< LD	27,78	
	Mode	/	< LD	/	
	Minimum	/	< LD	/	
	Maximum	/	< LD	/	
	Percentiles	25	/	< LD	/
		50	/	< LD	/
75		/	< LD	/	
Ballons (n=8)	Non-conformité	7 jouets (87,5%)	3 jouets (37,5%)	2 jouets (25%)	
	Moyenne ± Ecart type	2,13 ± 2,24	2,49 ± 4,55	4,62 ± 5,34	
	Mode	0,02	< LD	0,22	
	Minimum	0,02	< LD	0,22	
	Maximum	7,14	9,88	12,58	
	Percentiles	25	0,53	< LD	0,53
		50	1,52	< LD	1,52
75		2,67	7,43	11,11	
Jouets de bain (n=33)	Non-conformité	33 jouets (100%)	9 jouets (27,3%)	9 jouets (27,3%)	
	Moyenne ± Ecart type	11,74 ± 10,41	4,33 ± 11,63	16,07 ± 14,31	
	Mode	1,09	< LD	1,09	
	Minimum	0,15	< LD	0,15	
	Maximum	36,20	35,42	42,82	
	Percentiles	25	1,09	< LD	1,09
		50	7,39	< LD	12,66
75		17,77	0,38	20,64	

CHAPITRE II. RESULTATS

Tableau 77b. Distribution du taux des phtalates (DEHP et DINP) en fonction du type de jouets non conformes.

Type		% DEHP	% DINP	Somme %	
Balles (n=7)	Non-conformité	7 jouets (100%)	Aucun	7 jouets (100%)	
	Moyenne ± Ecart type	6,05 ± 8,16	0,04 ± 0,04	6,09 ± 8,13	
	Mode	0,31	0,07	0,38	
	Minimum	0,31	< LD	0,38	
	Maximum	21,01	0,07	21,01	
	Percentiles	25	0,31	< LD	0,38
		50	0,32	0,07	0,39
75		12,53	0,07	12,53	
Cubes (n=1)	Non-conformité	Aucun	1 jouet (100%)	Aucun	
	Moyenne	0,05	13,55	13,60	
	Mode	/	/	/	
	Minimum	/	/	/	
	Maximum	/	/	/	
	Percentiles	25	/	/	/
		50	/	/	/
75		/	/	/	
Accessoires (n=2)	Non-conformité	2 jouets (100%)	Aucun	2 jouets (100%)	
	Moyenne ± Ecart type	3,40 ± 4,31	0,004 ± 0,006	3,40 ± 4,31	
	Mode	0,35	< LD	0,35	
	Minimum	0,35	< LD	0,35	
	Maximum	6,44	0,01	6,45	
	Percentiles	25	0,35	< LD	0,35
		50	3,40	0,004	3,40
75		6,44	0,01	6,45	

La figure 78 illustre la distribution des indicateurs numériques de DEHP dans les jouets non conformes en fonction du type de jouets, présentés sous forme de boîte à moustaches (n=112).

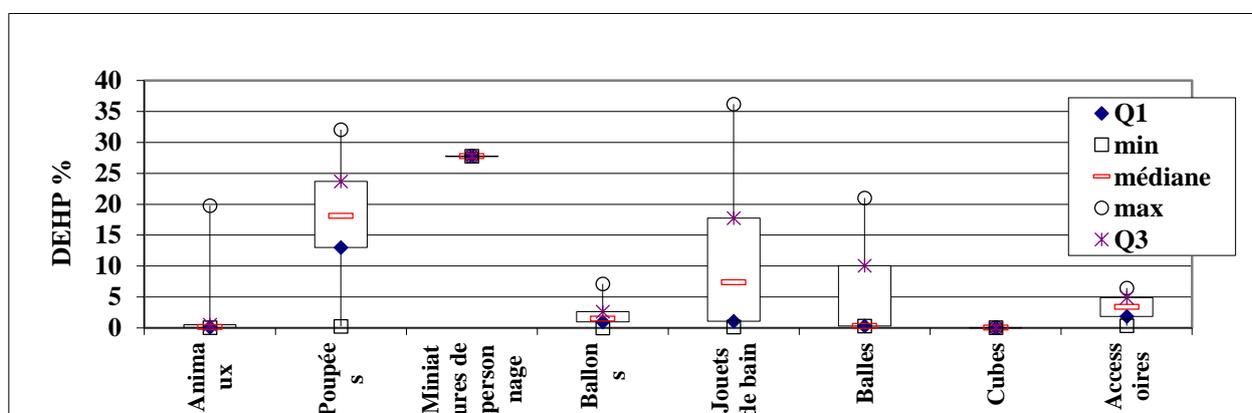


Figure 78. Représentation graphique de la distribution du taux de DEHP dans les jouets non conformes en fonction du type de jouets (n=112).

CHAPITRE II. RESULTATS

Le pourcentage maximum de DEHP (36,20%) a été observé dans deux jouets de bain (O₂₉ et O₃₀).

La figure 79 illustre la distribution des indicateurs numériques de DINP dans les jouets non conformes en fonction du type de jouets, présentés sous forme de boîte à moustaches (n=112).

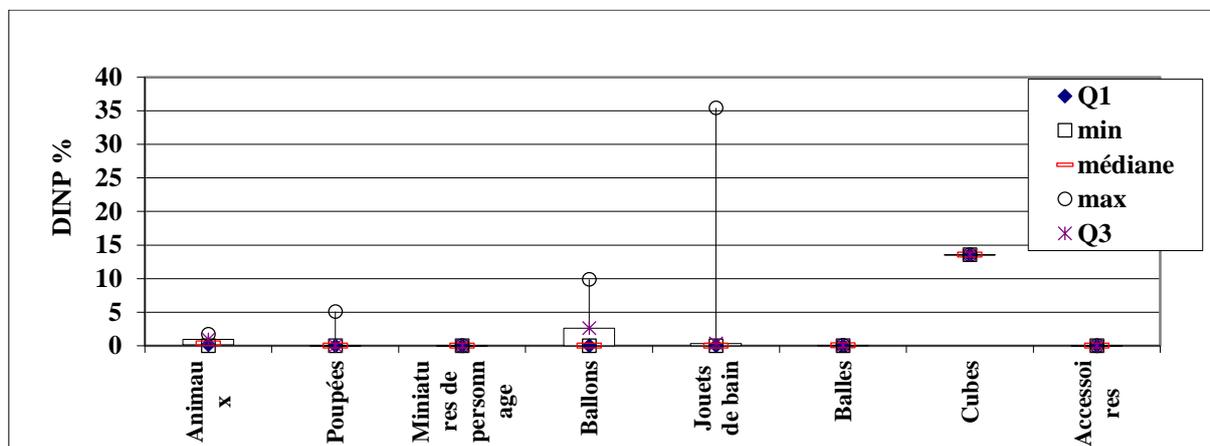


Figure 79. Représentation graphique de la distribution du taux de DINP dans les jouets non conformes en fonction du type de jouets (n=112).

Le pourcentage maximum de DINP (35,42%) a été constaté dans un jouet de bain (B₁₈).

La somme des deux phtalates était plus élevée (42,82%) dans le même jouet (B₁₈).

Sur l'ensemble des jouets en PVC souple analysés (n=149), 55 jouets (soit 36,9%) contenaient les deux phtalates simultanément à un taux détectable. Parmi eux, 44 jouets (soit 29,5%) présentaient un taux quantifiable des deux phtalates, et 30 jouets (soit 20,13%) étaient non conformes par rapport à leur teneur en DEHP et en DINP, c'est-à-dire que la teneur de chaque phtalate analysé dépassait la norme individuellement.

Dans ces 30 jouets, la moyenne de DEHP était de 6,33%, avec un écart type de 6,96%. Le taux maximum mesuré était de 25,77%, tandis que le taux minimum était de 0,28%. La moyenne de DINP était de 6,18%, avec un écart type de 11,82%. Le taux maximum de DINP était de 35,42%, et le taux minimum était de 0,15%.

Le tableau 78 présente les taux de phtalates (DEHP et DINP) dans les jouets non conformes en termes de taux de ces deux phtalates simultanément (n=30).

CHAPITRE II. RESULTATS

Tableau 78. Jouets non conformes en raison des taux de DEHP et DINP (n=30).

		DEHP	DINP
Moyenne % ± Ecart type		6,33 ± 6,96	6,18 ± 11,82
IC 95%		[3,73-8,93]	[1,76-10,59]
Médiane %		2,65	1,30
Mode %		0,64	0,16
Variance %		48,44	139,77
Minimum %		0,28	0,15
Maximum %		25,77	35,42
Percentiles %	25	0,46	0,43
	75	12,20	2,88

La figure 80 illustre la distribution des indicateurs numériques de DEHP et de DINP dans les jouets contenant les deux phtalates simultanément à un taux dépassant la norme fixée à 0,1%, présentés sous forme de boîte à moustaches (n=30).

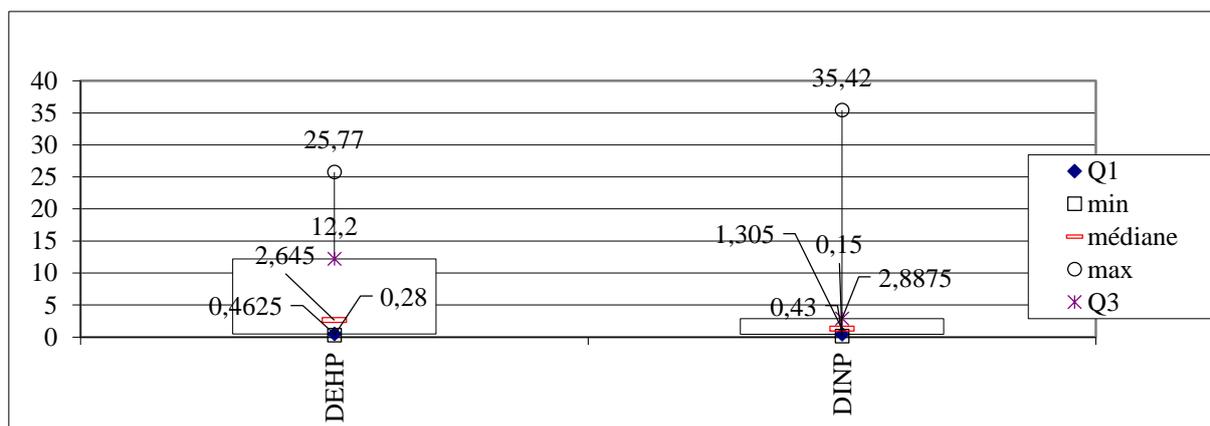


Figure 80. Représentation graphique de la distribution du taux de DEHP et DINP dans les jouets non conformes en raison de DEHP et DINP (n=30).

Le tableau 79 présente le type des 30 jouets non conformes par rapport à la teneur en DEHP et en DINP simultanément.

Tableau 79. Jouets non conformes par rapport au DEHP et DINP simultanément (n=30).

Type	Fréquence	Pourcentage
Animaux	15	50,0
Poupées	4	13,3
Ballons	2	6,7
Jouets de bain	9	30,0
Total	30	100,0

CHAPITRE II. RESULTATS

Les animaux constituaient 50% de l'ensemble des jouets non conformes en termes de teneur en DEHP et en DINP simultanément, soit 15 jouets. Les poupées représentaient 13,3%, soit 4 jouets. Les ballons représentaient 6,7%, soit 2 ballons, et les jouets de bain constituaient 30%, soit 9 jouets.

Parmi ces 30 jouets non conformes, le taux maximal de DEHP (25,77%) a été observé dans une poupée (C₄₆). Dans le même jouet, la teneur en DINP était de 3,28%, et la somme des deux phtalates atteignait 29,05%. La teneur maximale de DINP (35,42%) a été révélée dans un jouet de bain (B₁₈), avec une teneur de DEHP de 7,40%, et la somme des deux phtalates atteignait 42,82%.

II.5.2. Analyse inférentielle

a. Comparaison de la proportion des jouets non conformes en fonction de prix d'achat

Pour évaluer la relation entre la non-conformité des jouets analysés et leur prix d'achat, nous avons utilisé le test du χ^2 de Pearson, obtenant une valeur de $p = 0,039$ ($p < 0,05$). Cela indique l'existence d'une relation statistiquement significative entre la non-conformité des jouets et le prix d'achat bas (Tableau 80).

Tableau 80. Tableau croisé entre la non-conformité et le prix d'achat des jouets (n=149).

		Prix d'achat (DA)					Total	<i>khi-carré de Pearson</i>
		<200	200-400	400-600	600-800	>800		
Jouets non conformes	Non	9	10	6	6	6	37	$p = 0,039$ ($p < 0,05$)
	Oui	13	47	32	7	13	112	
Total		22	57	38	13	19	149	

b. Comparaison de la proportion des jouets non conformes en fonction de type de jouets

Afin de vérifier la relation entre la non-conformité des jouets analysés et le type de jouet, nous avons appliqué le test exact de Fisher qui a donné une valeur de $p = 0,001$ ($p < 0,05$).

Tableau 81. Tableau croisé entre la non-conformité et le type de jouet.

	Jouets non conformes		Total	Test exact de Fisher
	Non	Oui		
Animaux	2	35	37	$p = 0,001$ ($p < 0,05$)
Poupées	8	25	33	
Miniatures de personnage	1	1	2	
Ballons	8	8	16	
Jouets de bain	15	33	48	
Balles	0	7	7	
Cubes	1	1	2	
Accessoires	2	2	4	
Total	37	112	149	

CHAPITR II. RESULTATS

Il a été observé que les animaux, les jouets de bain et les poupées constituaient la majorité des jouets non conformes, avec une relation statistiquement significative.

c. Comparaison de la proportion des jouets contenant le DEHP et DINP ensemble

Afin de vérifier la relation entre la présence de DEHP et la présence de DINP, nous avons appliqué le test exact de *Fisher* qui a donné une valeur de $p = 0,002$ ($p < 0,05$).

Tableau 82. Tableau croisé entre la présence de DEHP et le DINP.

		Présence de DINP		Total	Test exact de <i>Fisher</i>
		Non	Oui		
Présence de DEHP	Non	14	0	14	$p = 0,002$ ($p < 0,05$)
	Oui	80	55	135	
Total		94	55	149	

Il est important de noter que la détection et la quantification de DINP s'accompagnaient systématiquement de la détection et de la quantification de DEHP dans tous les cas analysés, tandis que l'inverse n'était pas toujours vrai.

II.6. ESSAI DE MIGRATION SALIVAIRE *IN VITRO*

II.6.1. Analyse descriptive

a. Taux de migration salivaire des phtalates *in vitro*

Le test de migration salivaire *in vitro* a été réalisé sur les jouets en PVC qui ont révélé un taux de phtalates (DEHP et/ou DINP) supérieur à la norme (0,1%), qualifiés comme non conformes, et dont la partie restante du jouet était suffisante pour obtenir une surface totale de 10cm².

Parmi les 112 jouets non conformes, le test de migration salivaire *in vitro* a été réalisé sur 97 jouets, soit 86,61% des jouets non conformes.

Ces 97 jouets sont répartis selon le type dans le tableau 83.

Tableau 83. Type de jouets soumis à un test de migration salivaire *in vitro* (n=97).

	Fréquence	Pourcentage
Animaux	33	34,0
Poupées	14	14,4
Miniatures de personnage	1	1,0
Ballons	8	8,2
Jouets de bain	32	33,0
Balles	7	7,2
Cubes	1	1,0
Accessoires	1	1,0
Total	97	100,0

CHAPITRE II. RESULTATS

Le test de migration salivaire *in vitro* a été effectué sur 97 jouets, ce qui représente 65,10% de l'ensemble des jouets en PVC inclus dans notre étude (n=149).

Le test de migration salivaire *in vitro* a été appliqué sur 84 jouets parmi les jouets contenant un taux de DEHP dépassant la norme (n=98), soit 85,71%.

Parmi les 84 jouets soumis au test de migration *in vitro* en raison d'un taux de DEHP excessif, le DEHP a été détecté et quantifié dans 44 jouets, soit 52,4%.

Tableau 84. Taux de migration salivaire de DEHP *in vitro* ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$).

Taux de migration DEHP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)		
n	44	
Moyenne \pm Ecart type	1,54 \pm 0,92	
IC 95%	[1,27-1,82]	
Médiane	1,45	
Mode	0,71	
Variance	0,84	
Minimum	0,11	
Maximum	4,51	
Percentiles	5	0,36
	25	0,98
	75	1,72
	95	3,92

La figure 81 illustre la distribution des indicateurs numériques du taux de migration de DEHP à partir des jouets non conformes vers la salive artificielle, présentés sous forme de boîte à moustaches (n=44).

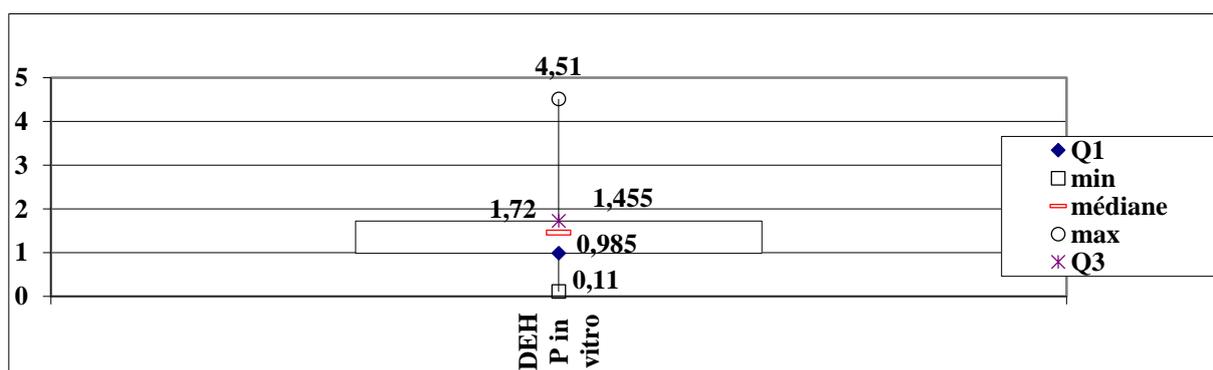


Figure 81. Représentation graphique de la distribution du taux de migration *in vitro* de DEHP à partir des jouets non conformes (n=44).

Le type des jouets dans lesquels le DEHP a migré vers la salive artificielle est présenté dans le tableau 85.

CHAPITRE II. RESULTATS

Tableau 85. Type de jouets dans lesquels le DEHP a migré vers la salive artificielle (n=44).

	Fréquence	Pourcentage
Animaux (n=33)	2	4,5
Poupées (n=14)	14	31,8
Miniatures de personnage (n=1)	1	2,3
Ballons (n=8)	1	2,3
Jouets de bain (n=32)	23	52,3
Balles (n=7)	3	6,8
Total	44	100,0

La fréquence de migration a été observée dans les poupées où 100% des jouets analysés ont révélé une migration du DEHP dans la salive artificielle, suivi par les jouets de bain, sur 32 jouets soumis au test de migration, 23 ont révélé une migration du DEHP, soit 71,87%.

La fréquence de migration était plus faible avec les animaux en plastique (2 sur 33, soit 6,06%) et dans les ballons (1 sur 8, soit 12,5%).

Le tableau 86a illustre la migration de DEHP *in vitro* en fonction de type de jouet.

Tableau 86a. Distribution du taux de migration de DEHP *in vitro* en fonction du type de jouets et de leur teneur en DEHP (n=44).

Type		DEHP (% p/p)	Taux de migration DEHP <i>in vitro</i> (µg/10cm ² /min)
Animaux (n=2)	Moyenne ± Ecart type	15,19 ± 4,86	1,29 ± 0,25
	Médiane	15,19	1,29
	Mode	11,75	1,12
	Minimum	11,75	1,12
	Maximum	18,63	1,47
	Percentiles	25	11,75
	50	15,19	1,29
	75	.	.
Poupées (n=14)	Moyenne ± Ecart type	19,13 ± 5,30	1,64 ± 0,81
	Médiane	20,14	1,57
	Mode	10,55	0,11
	Minimum	10,55	0,11
	Maximum	27,58	3,75
	Percentiles	25	13,92
	50	20,14	1,57
	75	22,81	1,92
Miniatures de personnage (n=1)	Moyenne	27,78	1,88
	Médiane	27,78	1,88
	Mode	27,78	1,88
	Minimum	27,78	1,88
	Maximum	27,78	1,88
	Percentiles	25	27,78
	50	27,78	1,88
	75	27,78	1,88

CHAPITR II. RESULTATS

Tableau 86b. Distribution du taux de migration du DEHP *in vitro* en fonction du type de jouets et de leur teneur en DEHP (n=44).

Type		DEHP (% p/p)	Taux de migration DEHP <i>in vitro</i> (µg/10cm ² /min)
Ballons (n=1)	Moyenne	7,14	0,66
	Médiane	/	/
	Mode	/	/
	Minimum	/	/
	Maximum	/	/
	Percentiles	25	/
	50	/	/
	75	/	/
Jouets de bain (n=23)	Moyenne ± Ecart type	16,23 ± 9,30	1,61 ± 1,05
	Médiane	13,90	1,44
	Mode	7,26	0,71
	Minimum	7,05	0,52
	Maximum	36,20	4,51
	Percentiles	25	7,39
	50	13,90	1,44
	75	20,63	1,63
Balles (n=3)	Moyenne ± Ecart type	13,70 ± 6,79	0,95 ± 0,71
	Médiane	12,52	0,83
	Mode	7,57	0,31
	Ecart type	6,79	0,71
	Minimum	7,57	0,31
	Maximum	21,01	1,71
Percentiles	25	7,57	0,31
	50	12,53	0,83
	75	.	.

Le taux de migration de DEHP le plus élevé estimé à 4,51µg/10cm²/min a été révélé dans un jouet de bain (O₂₉) avec un taux de DEHP estimé à 36,20% en poids.

Le taux minimum a été observé dans une poupée (A1₁₆), atteignant 0,11µg/10cm²/min.

Le test de migration salivaire *in vitro* a été appliqué sur 42 jouets parmi les 44 jouets présentant un taux de DINP supérieur à la norme, soit 95,45%.

Parmi ces 42 jouets, le DINP a été détecté et quantifié suite au test de migration *in vitro* dans 6 jouets, représentant ainsi 14,28%.

Le taux de migration moyen de DINP était de 1,90µg/10cm²/min, avec un écart type de 1,34µg/10cm²/min. Le taux de migration maximum observé était de 4,25µg/10cm²/min, tandis que le minimum était de 0,42 µg/10cm²/min (Tableau 87).

CHAPITR II. RESULTATS

Tableau 87. Taux de migration salivaire de DINP *in vitro* ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$) (n=6).

Taux de migration DINP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)		
Moyenne \pm Ecart type	1,90 \pm 1,34	
IC 95%	[0,50-3,31]	
Médiane	1,69	
Mode	0,42	
Variance	1,79	
Minimum	0,42	
Maximum	4,25	
Percentiles	5	~ 0,42
	25	1,11
	75	2,25
	95	~ 4,25

La figure 82 illustre la distribution des indicateurs numériques du taux de migration de DINP à partir des jouets non conformes vers la salive artificielle, présentés sous forme de boîte à moustaches (n=6).

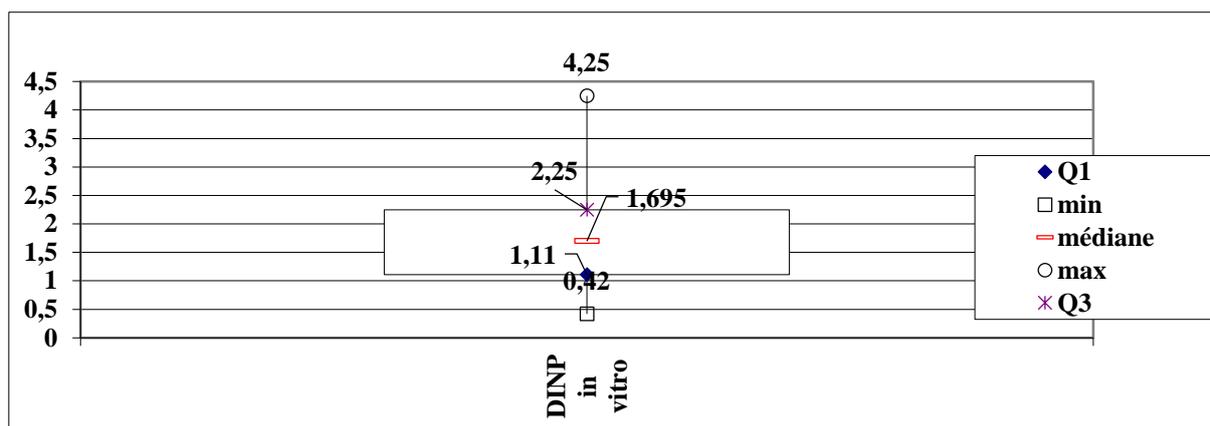


Figure 82. Représentation graphique de la distribution du taux de migration *in vitro* de DINP à partir des jouets non conformes (n=6).

Le type des jouets dans lesquels le DINP a migré vers la salive artificielle est présenté dans le tableau 88.

Tableau 88. Type de jouets dans lesquels le DINP a migré vers la salive artificielle (n=6).

	Fréquence	Pourcentage
Ballons (n=8)	1	16,7
Jouets de bain (n=32)	4	66,7
Cubes (n=1)	1	16,7
Total	6	100,0

Le DINP a présenté une migration dans 12,5% des jouets de bain (4 sur 32) et dans 12,5% des ballons (1 sur 8) inclus dans ce test.

CHAPITRE II. RESULTATS

Le tableau 89 illustre la migration de DINP *in vitro* en fonction de type de jouet et de leur teneur en DINP.

Tableau 89. Distribution du taux de migration de DINP *in vitro* en fonction du type de jouets et de leur teneur en DINP (n=6).

Type		DINP (% p/p)	Taux de migration DINP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)	
Ballons (n=1)	Moyenne	9,88	0,42	
	Médiane	/	/	
	Mode	/	/	
	Minimum	/	/	
	Maximum	/	/	
	Percentiles	5	/	/
		25	/	/
75		/	/	
95		/	/	
Jouets de bain (n=4)	Moyenne \pm Ecart type	35,17 \pm 0,168	2,49 \pm 1,24	
	Médiane	35,10	2,17	
	Mode	35,06	1,38	
	Minimum	35,06	1,38	
	Maximum	35,42	4,25	
	Percentiles	5	35,06	1,38
		25	35,07	1,54
75		35,34	3,77	
95		.	.	
Cubes (n=1)	Moyenne	13,55	1,02	
	Médiane	/	/	
	Mode	/	/	
	Minimum	/	/	
	Maximum	/	/	
	Percentiles	5	/	/
		25	/	/
75		/	/	
95		/	/	

Le taux de migration de DINP le plus élevé estimé à $4,25\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ a été révélé dans un jouet de bain (B₁₆) qui avait une teneur de 35,09% en DINP.

Le taux minimum a été observé dans un ballon (S₂), atteignant $0,42\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$.

b. Comparaison des taux de migration des phtalates *in vitro* aux valeurs guides

Le taux de migration de DEHP *in vitro* obtenu à partir des 44 jouets en PVC qui ont subi un test de migration *in vitro*, a été comparé avec les valeurs guides de migration proposées par SCTEE (1998) fixées à $1,67\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ (Figure 83).

CHAPITRE II. RESULTATS

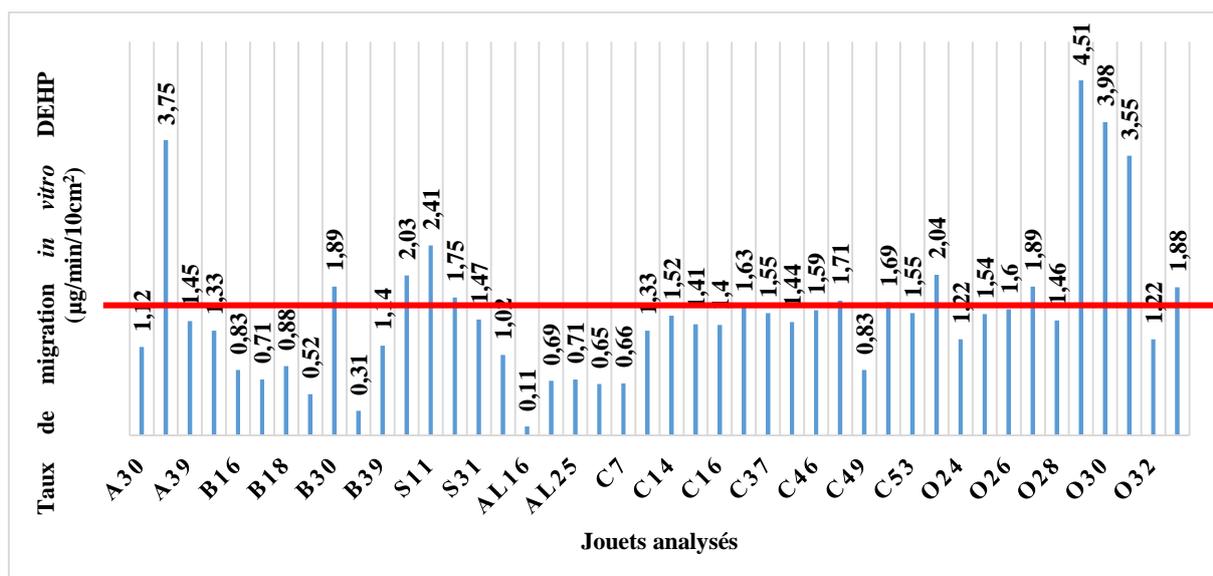


Figure 83. Comparaison du taux de de migration de DEHP *in vitro* ($\mu\text{g}/\text{min}/10\text{ cm}^2$) à la valeur guide de migration ($1,67\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$).

Sur l'ensemble des jouets non conforme par rapport au DEHP et qui ont subi le test de migration salivaire *in vitro* (n=44), 13 jouets ont présenté un taux de migration supérieur à la valeur guide fixée à $1,67\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, représentant ainsi 29,54%.

Le taux de migration de DINP *in vitro* obtenu à partir des 6 jouets soumis au test de migration *in vitro*, a été comparé avec la valeur guide de migration proposée par SCTEE (1998) fixées à $6,67\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ (Figure 84).

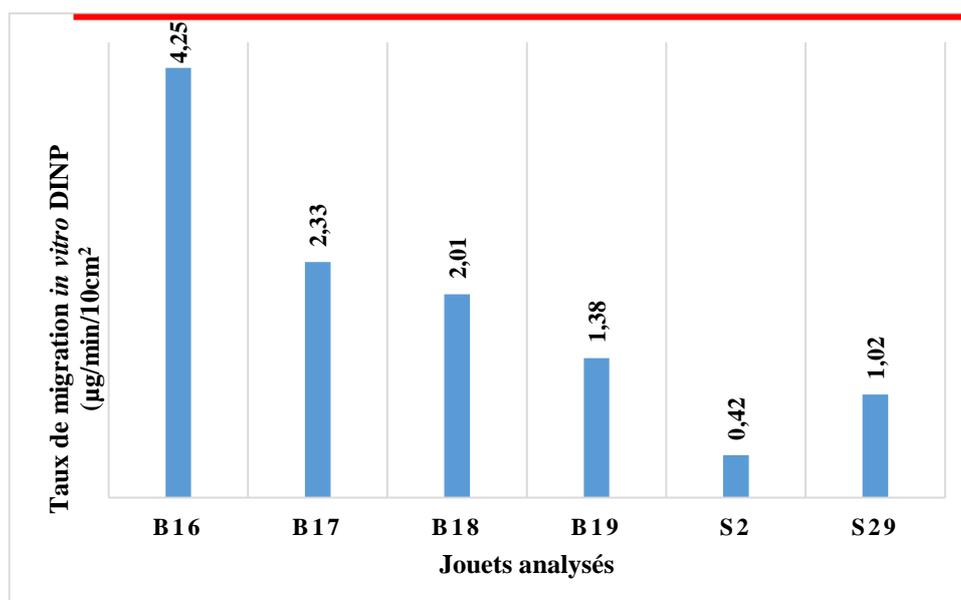


Figure 84. Comparaison du taux de de migration de DINP *in vitro* ($\mu\text{g}/\text{min}/10\text{ cm}^2$) à la valeur guide de migration ($6,67\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$).

CHAPITRE II. RESULTATS

Parmi tous les jouets non conformes au DINP qui ont subi le test de migration salivaire *in vitro* et dans lesquels le DINP a migré (n=6), aucun n'a enregistré un taux de migration supérieur à la valeur guide de migration proposée, fixée à 6,67 µg/10cm²/min.

II.6.2. Analyse inférentielle

a. Etude de la corrélation entre le taux de phtalates type DEHP et le taux de migration *in vitro* (n=44)

Afin d'étudier la corrélation entre le taux de DEHP dans les jouets en PVC analysés (% p/p) et le taux de migration salivaire de DEHP *in vitro*, nous avons appliqué la corrélation de *Pearson* après avoir vérifié les conditions de validité du test (Tableau 90).

Tableau 90. Test de normalité (DEHP (% p/p) et taux de migration de DEHP *in vitro*).

Statistiques	DEHP (% p/p)	Taux de migration DEHP <i>in vitro</i> (µg/10cm ² /min)
Moyenne ± Ecart type	16,98 ± 7,94	1,54 ± 0,92
Intervalle de confiance à 95 %	[14,57-19,40]	[1,27-1,82]
Médiane	17,69	1,45
Variance	63,11	0,84
Minimum	7,05	0,11
Maximum	36,20	4,51
Tests de normalité <i>Kolmogorov-Smirnov –Shapiro-Wilk</i>	$p > 0,05$	$p > 0,05$

Selon les résultats des tests de normalité (*Kolmogorov-Smirnov* et *Shapiro-Wilk*), la distribution des taux de DEHP et le taux de migration *in vitro* suit une loi normale ($p > 0,05$). Par conséquent, nous avons procédé à une analyse de corrélation paramétrique entre les deux variables quantitatives : le pourcentage de DEHP et le taux de migration *in vitro* du DEHP (corrélation de *Pearson*).

Les résultats de l'analyse de corrélation paramétrique sont présentés dans le tableau 91.

Tableau 91. Analyse de corrélation paramétrique entre la teneur des jouets en DEHP (% p/p) et taux de migration de DEHP *in vitro* (µg/10cm²/min).

		DEHP (% p/p)	Taux de migration DEHP <i>in vitro</i> (µg/10cm ² /min)
DEHP (% p/p)	Corrélation de <i>Pearson</i>	1	0,895
	p		0,000
	n	44	44
Taux de migration DEHP <i>in vitro</i> (µg/10cm ² /min)	Corrélation de <i>Pearson</i>	0,895	1
	p	0,000	
	n	44	44

CHAPITRE II. RESULTATS

La figure 85 ci-dessous illustre la courbe de régression.

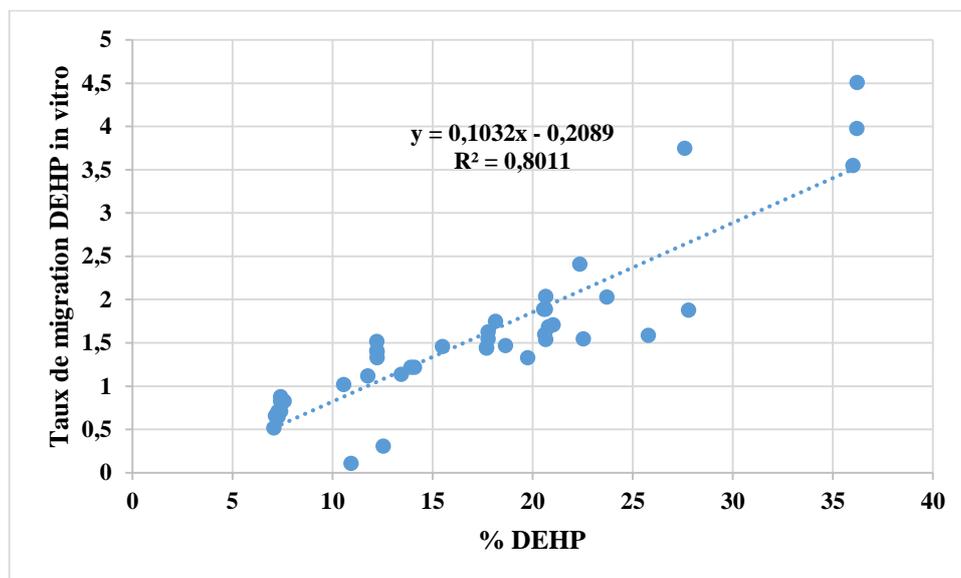


Figure 85. Corrélation entre le taux de DEHP (% p/p) et le taux de migration *in vitro* ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$) (n=44).

Récapitulatif du modèle ^b		
Modèle	r Coefficient de corrélation	R ² Coefficient de détermination
1	0,895 ^a	0,801
a. Prédicteurs : (Constante), % DEHP		
b. Variable dépendante : Taux de migration DEHP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)		

En se basant sur le coefficient de corrélation obtenu ($r > 0,7$), une corrélation forte a été observée entre la variable dépendante (taux de migration *in vitro* du DEHP en $\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$) et le prédicteur (% de DEHP). La corrélation de *Pearson* a révélé une valeur de $p = 0,000$ ($p < 0,05$), indiquant ainsi que cette corrélation était statistiquement significative.

b. Etude de la corrélation entre le taux de phtalate type DINP et le taux de migration *in vitro* (n=6)

Afin d'étudier la corrélation entre le taux de DINP dans les jouets en PVC analysés (% p/p) et le taux de migration salivaire de DINP *in vitro*, nous avons appliqué la corrélation non paramétrique de *Spearman* après avoir vérifié les conditions de validité du test ($n < 30$) (Tableau 92).

CHAPITR II. RESULTATS

Tableau 92. Test de normalité (DINP (% p/p) et taux de migration de DINP *in vitro* ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)).

		DINP (% p/p)	Taux de migration DINP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)
Moyenne \pm Ecart type		27,35 \pm 12,17	1,90 \pm 1,34
Intervalle de confiance à 95 %		[14,58-40,12]	[0,50-3,31]
Variance		148,05	1,79
Minimum		9,88	0,42
Maximum		35,42	4,25
Percentiles	25	12,63	1,11
	50	35,07	1,69
	75	35,19	2,25
Tests de normalité <i>Kolmogorov-Smirnov –Shapiro-Wilk</i>		$P < 0,05$	

Les résultats de l'analyse de corrélation non paramétrique sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 93. Analyse de corrélation non paramétrique entre la teneur des jouets en DINP (% p/p) et taux de migration de DINP *in vitro* ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$).

		DINP (% p/p)	Taux de migration DINP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)
<i>Rho de Spearman</i>	DINP (% p/p)	Coefficient de corrélation	1,000
		<i>p</i>	.
		<i>n</i>	6
	Taux de migration DINP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)	Coefficient de corrélation	0,771
		<i>p</i>	0,072
		<i>n</i>	6

La figure ci-dessous illustre la courbe de régression.

CHAPITRE II. RESULTATS

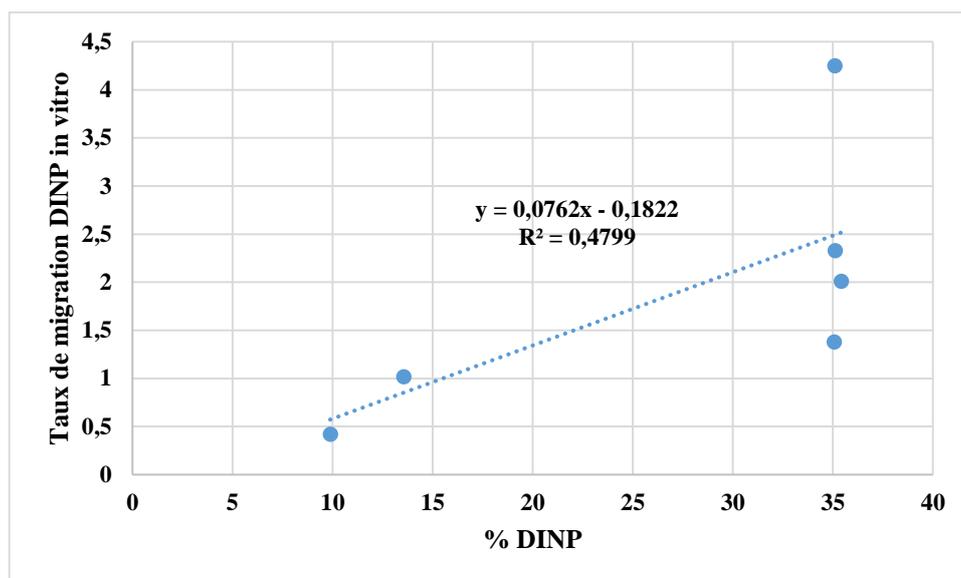


Figure 86. Corrélation entre le taux de DINP (% p/p) et le taux de migration *in vitro* (µg/cm²/min) (n=6).

Récapitulatif des modèles ^b		
Modèle	r Coefficient de corrélation	R ² Coefficient de détermination
1	0,693 ^a	0,480
a. Prédicteurs : (Constante), % DINP		
b. Variable dépendante : Taux de migration DINP <i>in vitro</i> (µg/10cm ² /min)		

Les points de données pour le DINP étaient beaucoup plus dispersés. La valeur de R² était plus faible pour le DINP.

Selon le coefficient de corrélation obtenu ($r < 0,7$), nous avons observé une corrélation moyenne entre la variable dépendante (Taux de migration DINP *in vitro* en µg/10cm²/min) et le prédicteur (% DINP). Cependant, la corrélation non paramétrique de Spearman a révélé une valeur de $p = 0,072$ ($p > 0,05$), indiquant ainsi que cette corrélation n'était pas statistiquement significative.

II.7. ESSAI DE MIGRATION SALIVAIRE *IN VIVO*

Un total de 65 adultes volontaires a participé à l'essai de migration salivaire *in vivo*, comprenant 34 femmes et 31 hommes. Il est à noter qu'un même sujet volontaire a pu participer plusieurs fois au test.

II.7.1. Analyse descriptive

a. Taux de migration salivaire des phtalates *in vivo*

Le test de migration *in vivo* a été réalisé sur 82 jouets, ce qui représente 55% du total de 149 jouets en PVC analysés.

CHAPITRE II. RESULTATS

Le test de migration *in vivo* a été réalisé sur 82 jouets sur un total de 112 jouets non conformes, soit 73,21%.

Les 82 jouets sont classés par type dans le tableau 94.

Tableau 94. Type de jouets soumis à un test de migration salivaire *in vivo* (n=82).

	Fréquence	Pourcentage
Animaux	29	35,4
Poupées	5	6,1
Ballons	8	9,8
Jouets de bain	31	37,8
Balles	7	8,5
Cubes	1	1,2
Accessoires	1	1,2
Total	82	100,0

Le test de migration salivaire *in vivo* a été appliqué sur 70 jouets parmi ceux contenant un taux de DEHP dépassant la norme (n=98), représentant ainsi 71,43%.

Le DEHP a été détecté *in vivo* dans 24 jouets parmi les 70 jouets contenant un taux de DEHP dépassant la norme, ce qui représente 34,28%.

Le type des jouets dans lesquels le DEHP a migré vers la salive naturelle des adultes volontaires est présenté dans le tableau 95.

Tableau 95. Type de jouets dans lesquels le DEHP a migré vers la salive naturelle (n=24).

	Fréquence	Pourcentage
Animaux (n=29)	1	4,2
Poupées (n=5)	3	12,5
Ballons (n=8)	1	4,2
Jouets de bain (n=31)	16	66,7
Balles (n=7)	2	8,3
Accessoires (n=1)	1	4,2
Total	24	100,0

Le taux de migration *in vivo* moyen de DEHP était de $0,68\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, avec un écart type de $0,33\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. Le taux maximum observé était de $1,36\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, tandis que le taux minimum était de $0,12\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$.

CHAPITR II. RESULTATS

Tableau 96. Taux de migration de DEHP *in vivo* ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$) (n=24).

Taux de migration DEHP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)		
Moyenne \pm Ecart type	0,68 \pm 0,33	
IC 95 %	[0,54-0,82]	
Médiane	0,64	
Ecart type	0,33	
Variance	0,11	
Minimum	0,12	
Maximum	1,36	
Percentiles	25	0,41
	75	0,89

La figure 87 illustre la distribution des indicateurs numériques du taux de migration de DEHP à partir des jouets non conformes vers la salive des volontaires, présentés sous forme de boîte à moustaches (n=24).

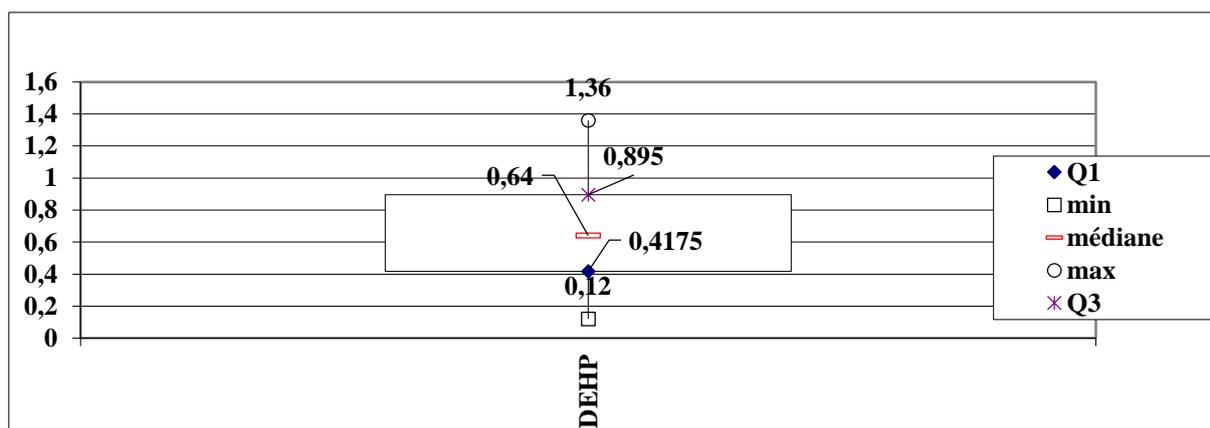


Figure 87. Représentation graphique de la distribution du taux de migration *in vivo* de DEHP à partir des jouets non conformes (n=24).

Le tableau 97 illustre la migration de DEHP *in vivo* en fonction de type de jouet et de leur teneur en DEHP.

CHAPITRE II. RESULTATS

Tableau 97. Distribution du taux de migration de DEHP *in vivo* en fonction du type de jouets et de leur teneur en DEHP (n=24).

Type		DEHP (% p/p)	Taux de migration DEHP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)
Animaux (n=1)	Moyenne	11,75	0,41
Poupées (n=3)	Moyenne \pm Ecart type	22,62 \pm 4,31	0,91 \pm 0,39
	Médiane	20,54	0,71
	Mode	19,74	0,65
	Minimum	19,74	0,65
	Maximum	27,58	1,36
	Percentiles	25	19,74
	50	20,54	0,71
	75	.	.
Ballons (n=1)	Moyenne	1,74	0,42
Jouets de bain (n=16)	Moyenne \pm Ecart type	19,22 \pm 9,49	0,72 \pm 0,31
	Médiane	17,77	0,64
	Mode	12,20	1,22
	Minimum	7,26	0,27
	Maximum	36,20	1,22
	Percentiles	25	12,20
	50	17,77	0,64
	75	20,64	1,00
Balles (n=2)	Moyenne \pm Ecart type	14,29 \pm 9,50	0,22 \pm 0,155
	Médiane	14,29	0,22
	Mode	7,57	0,12
	Minimum	7,57	0,12
	Maximum	21,01	0,33
	Percentiles	25	7,57
	50	14,29	0,22
	75	.	.
Accessoires (n=1)	Moyenne	6,44	0,88

Le taux de migration de DEHP le plus élevé, estimé à $1,36\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, a été observé dans une poupée (A₃₃) présentant une teneur de DEHP de 27,58%.

Le test de migration salivaire *in vivo* a été appliqué sur 34 jouets parmi ceux contenant un taux de DINP dépassant la norme (n=44), représentant ainsi 77,27%. Le DINP a été détecté et quantifié dans 4 jouets parmi les 34 jouets contenant un taux de DINP dépassant la norme et ayant subi un test de migration *in vivo*, soit 11,76%. Il est important de noter que le DINP a migré vers la salive naturelle des adultes volontaires exclusivement à partir des jouets de bain (100%).

CHAPITRE II. RESULTATS

Tableau 98. Taux de migration de DINP *in vivo* ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$) (n=4)

Taux de migration DINP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)		
Mode		0,44
Moyenne \pm Ecart type		0,97 \pm 0,40
IC 95%		[0,33-1,62]
Médiane		1,01
Variance		0,16
Minimum		0,44
Maximum		1,42
Percentiles	25	0,8375
	75	1,15

La figure 88 illustre la distribution des indicateurs numériques du taux de migration de DINP à partir des jouets non conformes vers la salive des volontaires adultes, présentés sous forme de boîte à moustaches (n=4).

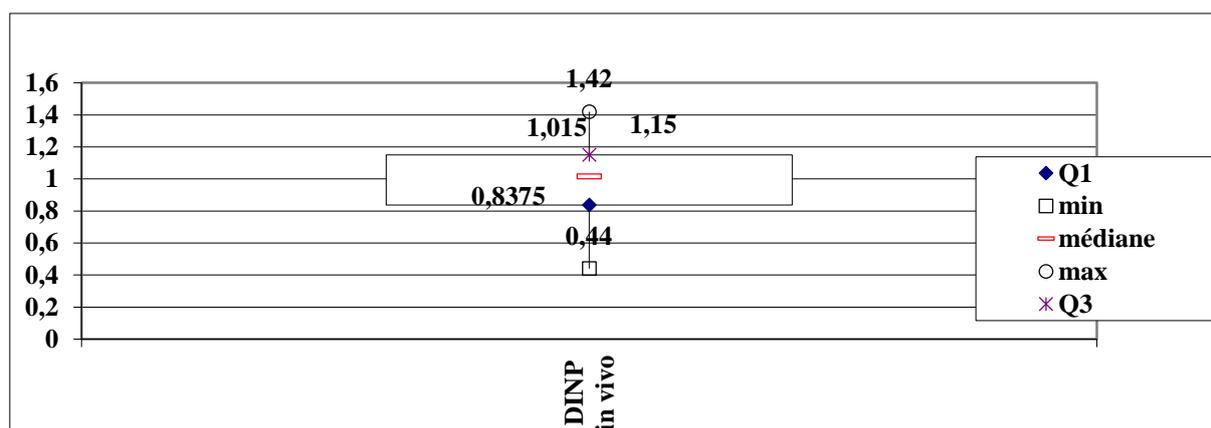


Figure 88. Représentation graphique de la distribution du taux de migration *in vivo* de DINP à partir des jouets non conformes (n=4).

Le taux de migration de DINP le plus élevé estimé à $1,42\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ a été révélé dans un jouet de bain (B₁₈), présentant une teneur de DINP de 35,42%

b. Comparaison des taux de migration des phtalates *in vivo* aux valeurs guides

Le taux de migration de DEHP *in vivo* obtenu à partir des 24 jouets qui ont subi un test de migration *in vivo*, a été comparé avec les valeurs guides de migration proposées par SCTEE (1998) fixées à $1,67\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ (Figure 89).

CHAPITRE II. RESULTATS

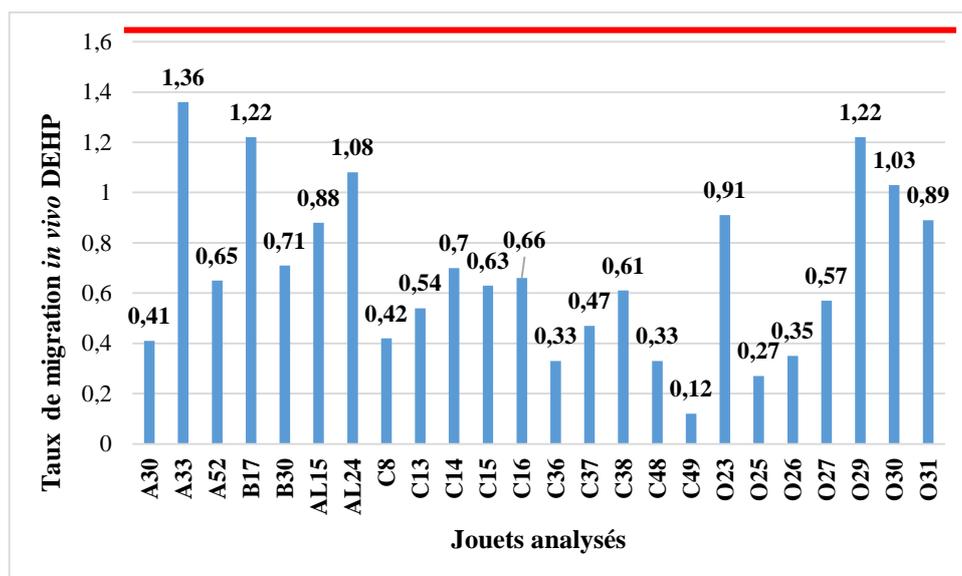


Figure 89. Comparaison du taux de de migration de DEHP *in vivo* ($\mu\text{g}/\text{min}/10\text{cm}^2$) à la valeur guide de migration ($1,67\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$) (n=24).

Sur l'ensemble des jouets non conformes par rapport au DEHP et ayant fait l'objet du test de migration salivaire *in vivo*, dans lesquels le DEHP a migré vers la salive naturelle (n=24), aucun jouet n'a présenté un taux de migration supérieur à la valeur guide fixée à $1,67\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$.

Le taux de migration de DINP *in vivo* obtenu à partir des 4 jouets soumis au test de migration *in vivo*, a été comparé avec la valeur guide de migration proposée par SCTEE (1998) fixées à $6,67\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ (Figure 90).

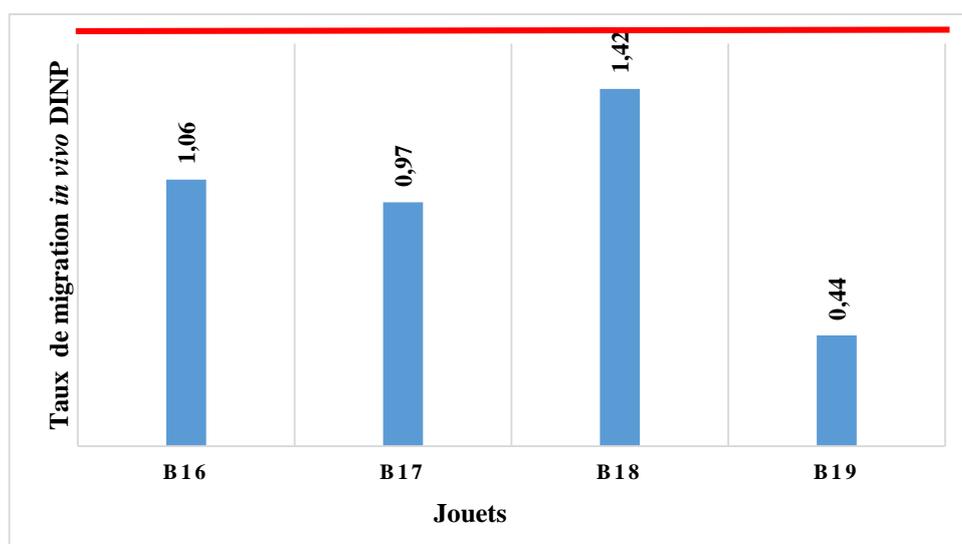


Figure 90. Comparaison du taux de de migration de DINP *in vivo* ($\mu\text{g}/\text{min}/10\text{cm}^2$) à la valeur guide de migration ($6,67\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$) (n=4).

CHAPITRE II. RESULTATS

Sur l'ensemble des jouets non conformes par rapport au DINP et qui ont subi le test de migration salivaire *in vivo*, dans lesquels le DINP a migré (n=4), aucune jouet n'a donné un taux de migration supérieur à la valeur guide de migration proposée par SCTEE (1998) fixées à $6,67\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$.

II.7.2. Analyse inférentielle

a. Etude de la corrélation entre le taux de phtalate type DEHP et le taux de migration *in vivo* (n=24)

Afin d'étudier la corrélation entre le taux de DEHP dans les jouets en PVC analysés (% p/p) et le taux de migration salivaire de DEHP *in vivo*, nous avons appliqué la corrélation non paramétrique de *Spearman* après avoir vérifié les conditions de validité du test.

Dans les 24 jouets qui ont révélé une migration de DEHP *in vivo*, le taux moyen de migration DEHP *in vivo* \pm Ecart type a été estimé à $0,68 \pm 0,33\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, et le taux de DEHP % \pm Ecart type a été estimé à $17,67\% \pm 9,39\%$ (p/p) (Tableau 99).

Tableau 99. Récapitulatif des données de migration de DEHP *in vivo* et la teneur des jouets testés (n=24)

		DEHP (% p/p)	Taux de migration DEHP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)
Moyenne \pm Ecart type		17,67 \pm 9,39	0,68 \pm 0,33
Médiane		17,77	0,64
Minimum		1,74	0,12
Maximum		36,20	1,36
Percentiles	25	11,86	0,41
	75	20,64	0,89

Les résultats de l'analyse de corrélation non paramétrique sont présentés dans le tableau 100.

Tableau 100. Analyse de corrélation non paramétrique entre la teneur des jouets en DEHP (% p/p) et taux de migration de DEHP *in vivo* ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$).

			Taux de migration DEHP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)	DEHP (% p/p)
Rho de <i>Spearman</i>	Taux de migration DEHP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)	Coefficient de corrélation	1,000	0,175
		<i>p</i>	.	0,412
		<i>n</i>	24	24
	DEHP (% p/p)	Coefficient de corrélation	0,175	1,000
		<i>p</i>	0,412	.
		<i>n</i>	24	24

CHAPITRE II. RESULTATS

La courbe de régression est présentée dans la figure 91.

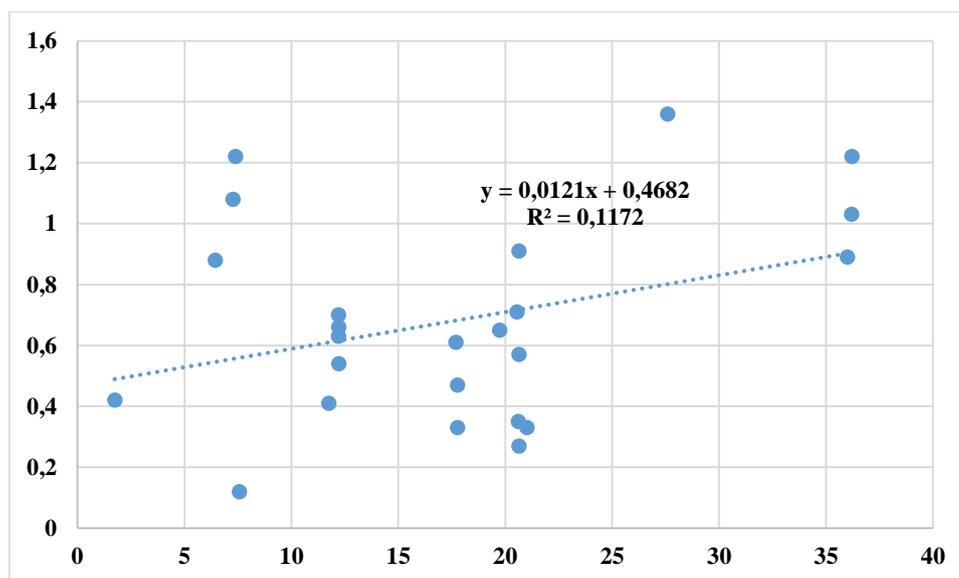


Figure 91. Corrélation entre le taux de DEHP (%p/p) et le taux de migration *in vivo* ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$) (n=24).

Récapitulatif des modèles ^b		
Modèle	r Coefficient de corrélation	R ² Coefficient de détermination
1	0,342 ^a	0,117
a. Prédicteurs : (Constante), % DEHP		
b. Variable dépendante : Taux de migration DEHP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)		

Selon le coefficient de corrélation obtenu ($r < 0,4$), une faible corrélation a été observée entre la variable dépendante (Taux de migration DEHP *in vivo* en $\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$) et le prédicteur (% DEHP). La corrélation non paramétrique de Spearman a révélé une valeur de $p = 0,412$ ($p > 0,05$), indiquant ainsi que cette corrélation n'était pas statistiquement significative.

b. Etude de la corrélation entre le taux de phtalate type DINP et le taux de migration *in vivo* (n=4)

Dans les 4 jouets qui ont révélé une migration de DINP *in vivo*, le taux moyen de migration DINP *in vivo* \pm Ecart type a été estimé à $0,97 \pm 0,40 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, et le taux de DINP \pm Ecart type a été estimé à $35,17 \pm 0,17$ (% p/p).

CHAPITRE II. RESULTATS

Tableau 101. Récapitulatif des données de migration de DINP *in vivo* et la teneur des jouets testés (n=4).

		DINP (% p/p)	Taux de migration DINP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)
Moyenne \pm Ecart type		35,17 \pm 0,17	0,97 \pm 0,40
Médiane		35,10	1,01
Minimum		35,06	0,44
Maximum		35,42	1,42
Percentiles	25	35,07	0,8375
	75	35,34	1,15

Afin d'étudier la corrélation entre le taux de DINP dans les jouets en PVC analysés (% p/p) et le taux de migration salivaire de DINP *in vivo*, nous avons appliqué la corrélation non paramétrique de *Spearman* après avoir vérifié les conditions de validité du test.

Les résultats de l'analyse de corrélation non paramétrique sont présentés dans le tableau 102.

Tableau 102. Analyse de corrélation non paramétrique entre la teneur des jouets en DINP (% p/p) et taux de migration de DINP *in vivo* ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$).

			DINP (% p/p)	Taux de migration DINP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)
<i>Rho</i> de <i>Spearman</i>	DINP (% p/p)	Coefficient de corrélation	1,000	0,800
		<i>p</i>	.	0,200
		<i>n</i>	4	4
	Taux de migration DINP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)	Coefficient de corrélation	0,800	1,000
		<i>p</i>	0,200	.
		<i>n</i>	4	4

La courbe de régression est présentée dans la figure 92.

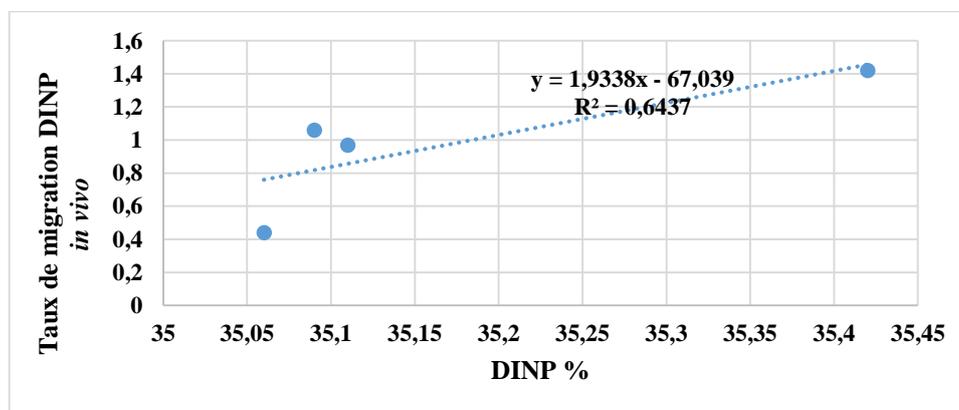


Figure 92. Corrélation entre le taux de DINP (% p/p) et le taux de migration *in vivo* ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$) (n=4).

CHAPITRE II. RESULTATS

Récapitulatif des modèles ^b		
Modèle	r Coefficient de corrélation	R ² Coefficient de détermination
1	0,799 ^a	0,638
a. Prédicteurs : (Constante), % DINP		
b. Variable dépendante : Taux de migration DINP <i>in vivo</i> (µg/10cm ² /min)		

En se basant sur le coefficient de corrélation obtenu ($r > 0,7$), une corrélation bonne a été observée entre la variable dépendante (Taux de migration DINP *in vivo* (µg/10cm²/min)) et le prédicteur (% DINP). Cependant, la corrélation non paramétrique de *Spearman* a montré un p -valeur de 0,200 ($p > 0,05$), indiquant ainsi que cette corrélation n'était pas statistiquement significative.

c. Etude de la corrélation entre le taux de migration de DEHP *in vitro* et *in vivo*

Le test de migration salivaire *in vitro* a été effectué sur 97 des 112 jouets non conformes, représentant ainsi une proportion de 86,61%. Quant au test de migration *in vivo*, il a été réalisé sur 82 des 112 jouets non conformes, soit une proportion de 73,21%.

Parmi les 112 jouets non conformes, 22 jouets en PVC, dont le taux de DEHP dépassait 0,1%, ont été soumis aux deux tests de migration *in vivo* et *in vitro*, ce qui équivaut à une proportion de 19,64%.

Les résultats des taux de migration issus des essais de migration salivaire *in vivo* et *in vitro* sont synthétisés dans le tableau 103.

Tableau 103. Taux de migration de DEHP *in vivo* et *in vitro* (µg/10cm²/min) (n=22).

	Moyenne ± Ecart type
Taux de migration DEHP <i>in vivo</i> (µg/10cm ² /min)	0,68 ± 0,34
Taux de migration DEHP <i>in vitro</i> (µg/10cm ² /min)	1,88 ± 1,07

Afin d'étudier la corrélation entre le taux de migration de DEHP *in vitro* et le taux de migration salivaire de DEHP *in vivo*, nous avons appliqué la corrélation non paramétrique de *Spearman* après avoir vérifié les conditions de validité du test.

Les résultats de l'analyse de corrélation non paramétrique sont présentés dans le tableau 104.

CHAPITRE II. RESULTATS

Tableau 104. Analyse de corrélation non paramétrique entre la migration de DEHP *in vitro* et *in vivo* ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$).

			Taux de migration DEHP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)	Taux de migration DEHP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)
<i>Rho de Spearman</i>	Taux de migration DEHP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)	Coefficient de corrélation	1,000	0,276
		<i>p</i>	.	0,214
		<i>n</i>	22	22
	Taux de migration DEHP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)	Coefficient de corrélation	0,276	1,000
		<i>p</i>	0,214	.
		<i>n</i>	22	22

La courbe de régression est présentée dans la figure 93.

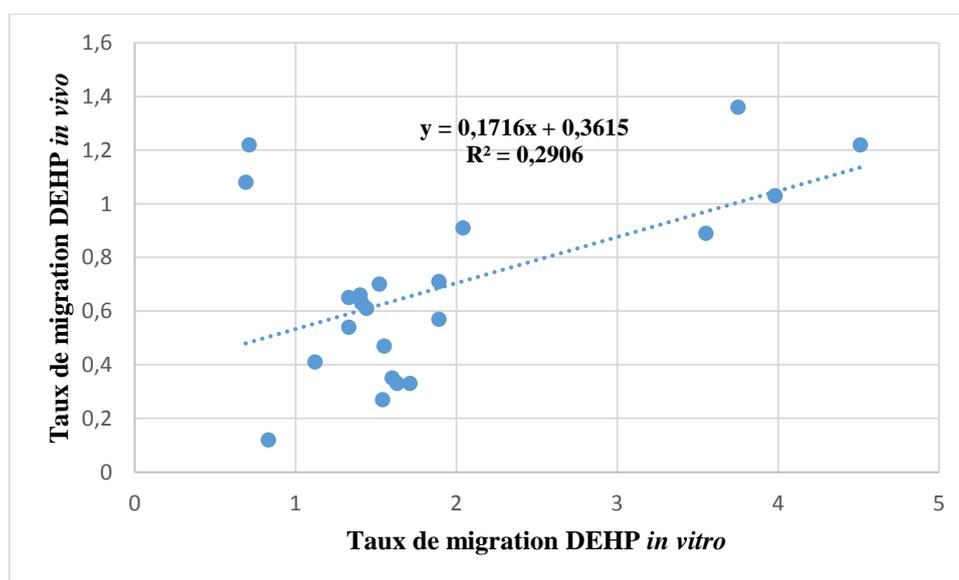


Figure 93. Corrélation entre le taux de migration de DEHP *in vivo* et *in vitro* ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$) ($n=22$).

Récapitulatif des modèles ^b	
<i>r</i> Coefficient de corrélation	R^2 Coefficient de détermination
0,539 ^a	0,291
a. Prédicteurs : (Constante), Taux de migration DEHP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)	
b. Variable dépendante : Taux de migration DEHP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)	

En se basant sur le coefficient de corrélation obtenu ($r < 0,7$), une corrélation de niveau moyen a été observée entre la variable dépendante (Taux de migration DEHP *in vitro* ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)) et le prédicteur (Taux de migration DEHP *in vivo* ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)). Cependant, la corrélation

CHAPITRE II. RESULTATS

non paramétrique de *Spearman* a révélé une valeur de p égale à 0,214 ($p > 0,05$), indiquant ainsi que cette corrélation n'était pas statistiquement significative.

d. Etude de la corrélation entre le taux de migration de DINP *in vitro* et *in vivo*

Quatre jouets, représentant 9,10% des 44 jouets non conformes en termes de taux de DINP, ont été soumis aux tests de migration *in vivo* et *in vitro*, révélant des taux de migration détectables et quantifiables.

Tableau 105. Taux de migration de DINP *in vivo* et *in vitro* ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$) (n=4).

	Moyenne	Ecart type	n
Taux de migration DINP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)	2,49	1,24	4
Taux de migration DINP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)	0,97	0,40	4

Afin d'étudier la corrélation entre le taux de migration de DINP *in vitro* et *in vivo*, nous avons appliqué la corrélation non paramétrique de *Spearman* après avoir vérifié les conditions de validité du test.

Les résultats de l'analyse de corrélation non paramétrique sont présentés dans le tableau 106.

Tableau 106. Analyse de corrélation non paramétrique entre la migration de DINP *in vitro* et *in vivo* ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$).

Corrélation non paramétrique			Taux de migration DINP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)	Taux de migration DINP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)
<i>Rho de Spearman</i>	Taux de migration DINP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)	Coefficient de corrélation	1,000	0,400
		p	.	0,600
		n	4	4
	Taux de migration DINP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)	Coefficient de corrélation	0,400	1,000
		p	0,600	.
		n	4	4

La courbe de régression est présentée dans la figure 94.

CHAPITRE II. RESULTATS

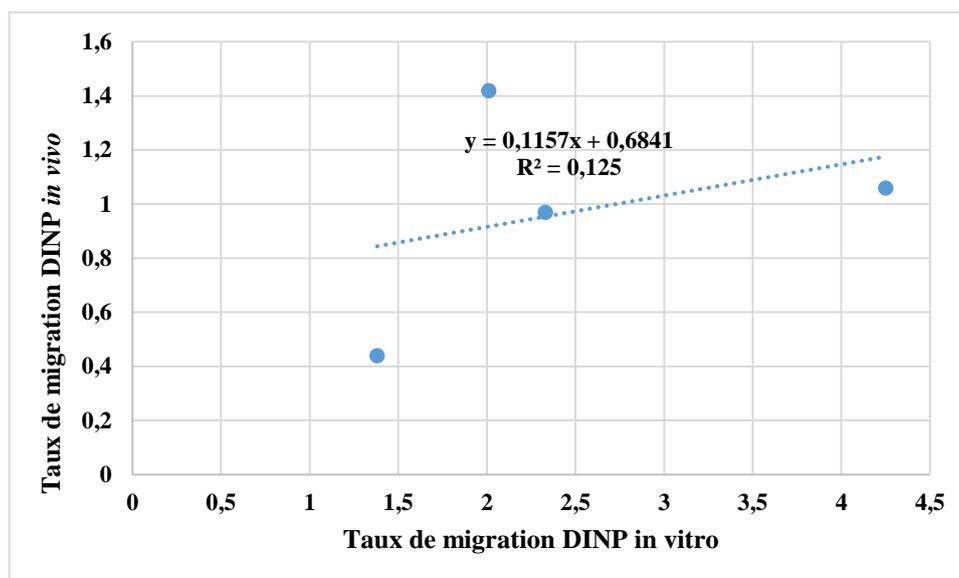


Figure 94. Corrélation entre le taux de migration de DINP *in vivo* et *in vitro* ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$) (n=4).

Récapitulatif des modèles ^b		
Modèle	r Coefficient de corrélation	R ² Coefficient de détermination
1	0,353 ^a	0,125
a. Prédicteurs : (Constante), Taux de migration DINP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)		
b. Variable dépendante : Taux de migration DINP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)		

En se basant sur le coefficient de corrélation obtenu ($r < 0,4$), une corrélation faible a été observée entre la variable dépendante (Taux de migration DINP *in vitro* ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)) et le prédicteur (Taux de migration DINP *in vivo* ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)). Néanmoins, la corrélation non paramétrique de *Spearman* a révélé une valeur p de 0,600 ($p > 0,05$), indiquant que cette corrélation n'était pas statistiquement significative.

e. Comparaison de la moyenne de migration de DEHP *in vivo* et *in vitro*

Afin de comparer les moyennes de migration du DEHP *in vivo* et *in vitro*, nous avons employé le test de *Wilcoxon* pour séries appariées, après avoir vérifié les conditions de validité de ce test non paramétrique.

Tableau 107. Comparaison de la moyenne de migration de DEHP *in vivo* et *in vitro*.

	Moyenne	Ecart type	Intervalle de confiance de la différence à 95 %		t	p
			Inférieur	Supérieur		
Taux de migration DEHP <i>in vitro</i> - Taux de migration DEHP <i>in vivo</i>	1,19	0,93	0,79	1,61	6,053	0,000 ($p < 0,05$)

CHAPITRE II. RESULTATS

Le test statistique non paramétrique de *Wilcoxon* pour séries appariées a révélé un $p < 0,05$ ($p = 0,000$). Nous avons observé une différence statistiquement significative entre la moyenne de migration du DEHP *in vivo* et la moyenne de migration *in vitro*.

f. Comparaison de la moyenne de taux de migration de DINP *in vivo* et *in vitro*

Pour comparer la moyenne de migration de DINP *in vivo* et la moyenne *in vitro*, nous avons appliqué le test non paramétrique de *Wilcoxon* pour série appariée après avoir vérifié les conditions de validité du test.

Tableau 108. Comparaison de la moyenne de migration de DINP *in vivo* et *in vitro*.

	Moyenne	Ecart type	Intervalle de confiance de la différence à 95 %		<i>t</i>	<i>p</i>
			Inférieur	Supérieur		
Taux de migration DINP <i>in vitro</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$) - Taux de migration DINP <i>in vivo</i> ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)	1,52000	1,15698	-0,32101	3,36101	2,628	0,078 ($p > 0,05$)

Le test statistique non paramétrique de *Wilcoxon* pour série appariée a révélé un $p > 0,05$ ($p = 0,078$). Nous avons constaté qu'il n'y a pas de différence statistiquement non significative entre la moyenne de migration de DINP *in vivo* et la moyenne de migration *in vitro*.

II.8. EVALUATION DES EXPOSITIONS

Pour l'évaluation de l'exposition, nous avons privilégié le taux de migration salivaire *in vitro* pour deux raisons principales. Tout d'abord, la plupart des études optent pour la migration *in vitro* en raison de sa praticité, permettant ainsi la comparaison de nos résultats avec la littérature scientifique. Deuxièmement, le taux obtenu *in vitro* est généralement supérieur à celui *in vivo*, ce qui accroît la marge de sécurité dans une approche raisonnablement protectrice.

II.8.1. Evaluation de l'exposition des enfants de moins de 36 mois au DEHP

Le calcul de la DJE a été réalisé pour chaque phtalate analysé (DEHP et DINP), en utilisant l'équation ci-dessous :

$$\text{DJE } (\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}) = (\text{F} \times \text{S} \times \text{D})/\text{Pc}$$

Pour le DEHP, la DJE a été calculée en considérant la moyenne, la valeur minimale de migration *in vitro*, la valeur maximale de migration *in vitro*, avec un intervalle de confiance

CHAPITRE II. RESULTATS

de 95% (n=44). Ces calculs ont été effectués pour trois classes d'âge distinctes : 1 à 12 mois, 12 à 24 mois et 24 à 36 mois.

Le tableau 109 résume la DJE calculée pour chaque classe d'âge.

Tableau 109. DJE des enfants de moins de 36 mois au DEHP ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$).

DEHP	Moyenne \pm Ecart type	Min	Max	IC 95%
DJE 1-12 mois ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$)	11,50 \pm 6,84	0,82	33,67	[9,45-13,62]
DJE 12-24 mois ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$)	2,37 \pm 1,41	0,17	6,95	[1,95-2,81]
DJE 24-36 mois ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$)	2,00 \pm 1,19	0,14	5,84	[1,64-2,36]

La représentation graphique (Figure 95) illustre la distribution des DJE au moyen de boîtes à moustaches pour chaque tranche d'âge.

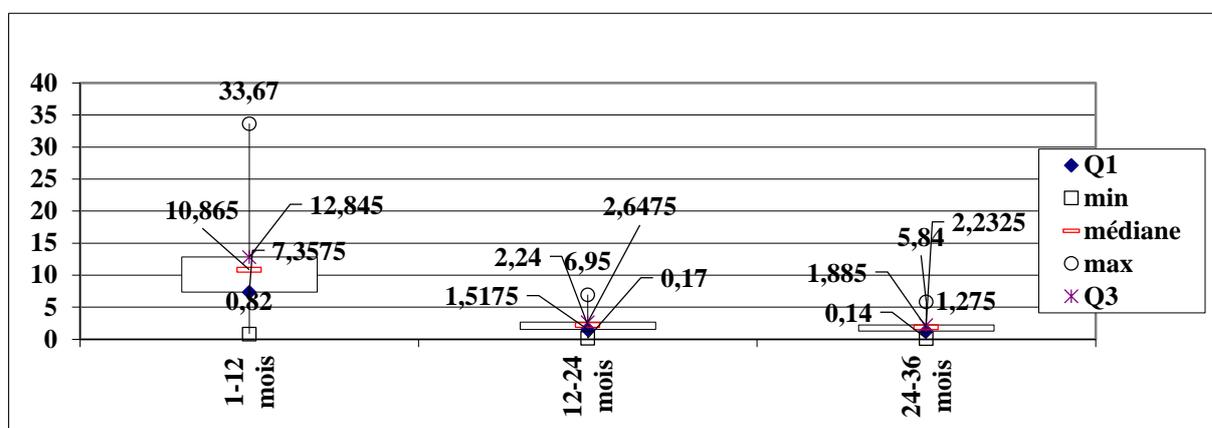


Figure 95. Représentation graphique de la distribution de la DJE de DEHP pour chaque tranche d'âge (n=44).

II.8.2. Evaluation de l'exposition des enfants de moins de 36 mois au DINP

Pour le DINP, la DJE a été calculée en considérant la moyenne, la valeur minimale de migration *in vitro*, la valeur maximale de migration *in vitro*, avec un intervalle de confiance de 95% (n=6). Ces calculs ont été effectués pour trois classes d'âge distinctes : 1 à 12 mois, 12 à 24 mois et 24 à 36 mois.

Le tableau 110 résume la DJE calculée pour chaque classe d'âge.

Tableau 110. DJE des enfants de moins de 36 mois au DINP ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$).

DINP	Moyenne \pm Ecart type	Min	Max	IC 95%
DJE 1-12 mois ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$)	14,19 \pm 9,99	3,14	31,73	[3,71-24,68]
DJE 12-24 mois ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$)	2,93 \pm 2,06	0,65	6,55	[0,77-5,09]
DJE 24-36 mois ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$)	2,46 \pm 1,74	0,54	5,51	[0,64-4,28]

CHAPITRE II. RESULTATS

La représentation graphique (Figure 96) illustre la distribution des DJE au moyen de boîtes à moustaches pour chaque tranche d'âge.

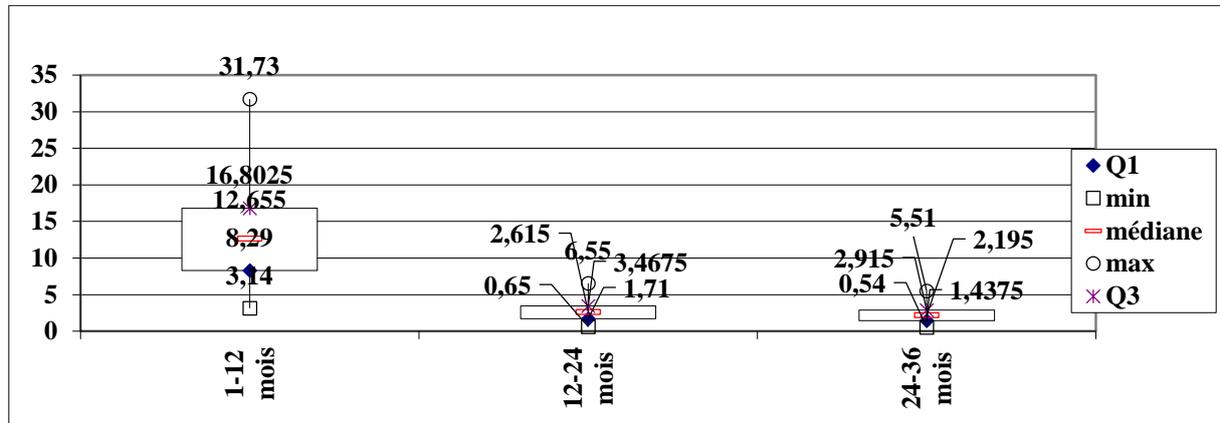


Figure 96. Représentation graphique de la distribution de la DJE de DINP pour chaque tranche d'âge (n=6).

II.8.3. Comparaison de la DJE moyenne de DEHP dans les trois groupes d'âge

Pour comparer la moyenne des trois groupes, nous avons vérifié les conditions d'application du test paramétrique ANOVA.

Tableau 111. Tests de normalité - Test d'homogénéité des variances de DJE du DEHP

	DJE 1-12 mois	DJE 12-24 mois	DJE 24-36 mois
Moyenne ± Ecart type	11,50 ± 6,84	2,37 ± 1,41	2,00 ± 1,19
Intervalle de confiance à 95 %	[9,45-13,62]	[1,95-2,81]	[1,64-2,36]
Médiane	10,86	2,24	1,88
Variance	46,79	1,99	1,41
Minimum	0,82	0,17	0,14
Maximum	33,67	6,95	5,84
Tests de normalité Kolmogorov-Smirnov Shapiro-Wilk	$p = 0,000$ ($p < 0,05$)	$p = 0,000$ ($p < 0,05$)	$p = 0,000$ ($p < 0,05$)
Test d'homogénéité des variances (Statistique de Levene)	$p = 0,000$ ($p < 0,05$)		

Le test d'homogénéité des variances, basé sur les statistiques de *Levene*, a abouti à une valeur p inférieure à α ($p = 0,000$). Ceci suggère des différences significatives entre les variances des groupes, indiquant ainsi que l'homogénéité des variances n'est pas satisfaite. Par conséquent, le test paramétrique ANOVA n'a pas été appliqué.

À la place, le test non paramétrique de *Kruskal-Wallis* pour échantillons indépendants a été utilisé pour comparer la moyenne de la DJE du DEHP dans les trois groupes d'âge. Une valeur

CHAPITRE II. RESULTATS

de p égale à 0,000 ($p < 0,05$) a été obtenue, indiquant ainsi une différence statistiquement significative entre les moyennes de DJE des trois groupes d'âge.

La figure 97 montre la DJE moyenne de DEHP dans les trois groupes d'âge.

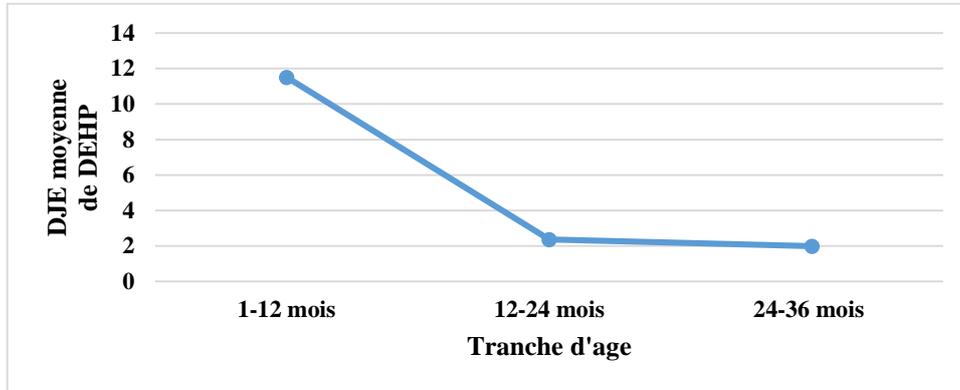


Figure 97. Comparaison de la DJE moyenne au DEHP entre les trois groupes d'âge de moins de 36 mois.

La DJE au DEHP était plus élevée dans le premier groupe (1-12 mois).

II.8.4. Comparaison de la DJE moyenne de DINP dans les trois groupes d'âge

Le test non paramétrique de *Kruskal-Wallis* d'échantillons indépendants a été utilisé pour comparer la moyenne de la DJE du DINP dans les trois groupes d'âge.

Nous avons obtenu une valeur de $p < 0,05$ ($p = 0,007$), cela indique qu'il y a une différence statistiquement significative entre la valeur DJE moyenne de DINP entre les trois groupes d'âge.

La figure 98 montre la DJE moyenne de DINP dans les trois groupes d'âge.

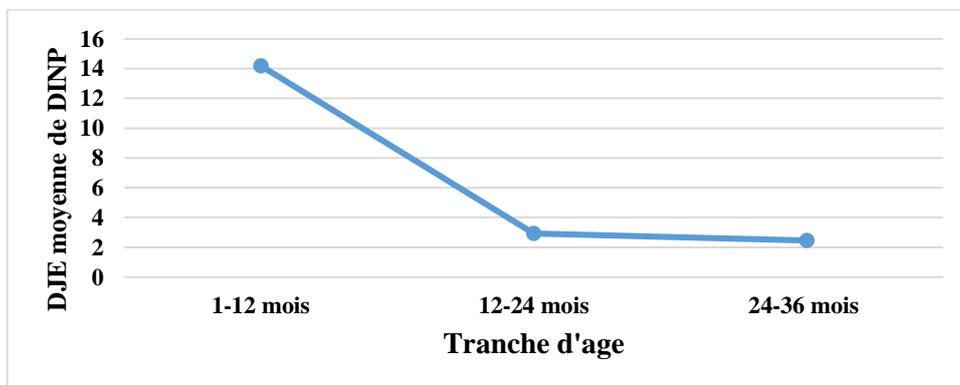


Figure 98. Comparaison de la DJE moyenne au DINP entre les trois groupes d'âge de moins de 36 mois.

CHAPITRE II. RESULTATS

La DJE au DINP était plus élevée dans le premier groupe (1-12 mois).

II.8.5. Comparaison des DJE avec la norme (DJA)

Nous avons adopté la VTR émise par l'autorité européenne de sécurité des aliments, en tenant compte des critères explicatifs du processus de détermination de la VTR, ainsi que de la qualité de l'étude clé, du choix de la dose critique et des facteurs d'incertitude.

Les expositions journalières moyennes et maximales au DEHP estimées pour les jouets analysés étaient systématiquement inférieures à la dose journalière admissible (DJA) recommandée par l'EFSA (50µg/kg/j), quelle que soit la classe d'âge.

De même, les expositions moyennes et maximales au DINP estimées pour les jouets analysés se situaient en deçà de la DJA préconisée par l'EFSA (150µg/kg/j), indépendamment de la classe d'âge considérée.

Afin de comparer la DJE moyenne de DEHP dans chaque classe d'âge avec la DJA, nous avons utilisé le test *t* de *Student* après avoir vérifié les conditions de validité du test, notamment la distribution normale de la DJE.

Pour évaluer la DJE moyenne de DINP dans chaque classe d'âge par rapport à la DJA, nous avons employé le test non paramétrique de *Mann-Whitney*.

Tableau 112. Comparaison des DJE (µg/kg/j) avec la norme DJA (µg/kg/j)

	DJA (µg/kg/j) EFSA	1-12 mois		12-24 mois		24-36 mois		Test statistique
		DJE moy	DJE max	DJE moy	DJE max	DJE moy	DJE max	
DEHP	50	11,50	33,67	2,37	6,95	1,99	5,84	<i>p</i> (Test de <i>student t</i>) <0,05
DINP	150	14,19	31,73	2,93	6,55	2,46	5,51	<i>p</i> (<i>Mann-Whitney</i>) <0,05

II.9. CARACTERISATION DU RISQUE

Dans le cadre de notre étude, nous avons uniquement pris en considération des effets à seuil lors de la phase de caractérisation des risques. Seuls les jouets dépassant les limites réglementaires en termes de teneurs en phtalates et ayant été soumis à un test de migration salivaire *in vitro* ont été inclus dans l'évaluation des risques.

Le risque non cancérigène de DEHP et DINP pour les enfants de moins de 36 mois a été déterminé en calculant la valeur du quotient de danger (QD), appelé également l'indice du risque ou hazard indice (HI).

La valeur numérique de ce rapport permet de savoir si la dose reçue, dépasse ou non la VTR :

$$\mathbf{QD = DJE/VTR}$$

CHAPITR II. RESULTATS

Les QD pour le DEHP et DINP pour les enfants de moins de 36 mois sont présentés dans le tableau 113 et le tableau 114.

Les indices du risque ont été calculés en utilisant la VTR proposée par l'EFSA et en prenant en compte les DJE maximale, minimale et moyenne.

En ce qui concerne le DEHP, les valeurs des indices du risque étaient toutes inférieures à 1 pour les trois classes d'âge selon les critères de l'EFSA, que l'on considère le niveau d'exposition maximal ou moyen.

Quant au DINP, les valeurs des indices du risque étaient également inférieures à 1 pour les trois classes d'âge selon les recommandations de l'EFSA.

Toutefois, les résultats des indices du risque ont suggéré que les enfants en bas âge (1-12 mois) sont potentiellement exposés à un risque pour la santé plus élevé par rapport aux enfants plus âgés.

Afin de comparer les indices de risque entre les trois classes d'âge, nous avons utilisé soit le test paramétrique *ANOVA*, soit le test non paramétrique de *Kruskal-Wallis* en fonction de la validité du test.

Tableau 113. Calcul de l'indice du risque d'exposition au DEHP selon le scénario de mise en bouche (n=44).

DEHP	VTR µg/kg/j	1-12 mois			12-24 mois			24-36 mois			<i>p</i> (test de <i>Kruskal-Wallis</i>)
		HI moyen	HI min	HI max	HI moyen	HI min	HI max	HI moyen	HI min	HI max	
EFSA	50	0,23	0,016	0,673	0,047	0,003	0,139	0,040	0,003	0,117	<i>p</i> <0,05

Tableau 114. Calcul de l'indice du risque d'exposition au DINP selon le scénario de mise en bouche (n=6).

DINP	VTR µg/kg/j	1-12 mois			12-24 mois			24-36 mois			<i>p</i> (test de <i>Kruskal-</i> <i>wallis</i>)
		HI moyen	HI min	HI max	HI moyen	HI min	HI max	HI moyen	HI min	HI max	
EFSA	150	0,095	0,021	0,212	0,020	0,004	0,044	0,016	0,003	0,037	<i>p</i> <0,05



CHAPITRE III
DISCUSSION

CHAPITRE III. DISCUSSION

Comme évoqué lors de la revue de la littérature, les phtalates sont largement utilisés dans les jouets en PVC [13], leur vaste champ d'applications et leur coût relativement bas en font le choix privilégié et le plastifiant le plus utilisé dans ces jouets [3, 14, 18-21].

Les phtalates ne sont pas chimiquement liés de manière covalente à la matrice du polymère, ce qui facilite leur migration vers le milieu en contact avec eux. Les enfants, en particulier ceux de moins de 36 mois, constituent une population spécifique particulièrement vulnérable aux risques toxiques associés aux phtalates, en raison de leur comportement de mise en bouche du plastique, qui est le matériau le plus fréquemment mis en bouche par les enfants [4-9]. Ce comportement peut entraîner une exposition orale aux phtalates qui migrent dans la salive, augmentant ainsi le risque [1, 3-5].

Il est crucial de souligner qu'en Algérie, aucune étude n'a encore été entreprise pour évaluer les niveaux de phtalates dans les jouets en PVC, ni pour évaluer l'exposition des enfants de moins de 36 mois aux phtalates *via* les jouets. C'est dans ce contexte que la présente discussion s'efforce de fournir des éclaircissements à cet égard.

L'objectif principal de ce travail était d'évaluer les niveaux d'exposition des enfants de moins de 36 mois à deux phtalates, à savoir le DEHP et le DINP, *via* les jouets neufs en PVC, commercialisés dans la région du Nord Algérien.

Il s'agit d'une étude expérimentale transversale. Nous avons choisi six wilayas de la région du Nord de l'Algérie comme zones d'étude, à savoir : Sétif, Constantine, Annaba, Bejaia, Alger et Oran. La sélection de cette zone s'est principalement basée sur les données de l'ONS. L'analyse de la répartition régionale des entités économiques indique qu'environ deux tiers d'entre elles sont concentrées dans la région nord du pays, avec une prédominance marquée dans le secteur commercial [215].

Afin de définir les critères d'inclusion, nous avons mené une enquête descriptive transversale non expérimentale auprès des parents originaires de trois wilayas (Bejaia, Sétif et Constantine). Cette enquête visait à recueillir des informations sur les caractéristiques des jouets achetés pour les enfants, notamment le matériau, le lieu d'achat, le prix et la vérification de l'âge.

Pour ce faire, un questionnaire en face à face a été administré aux parents. Au total, 400 parents ont été interrogés. 93% des parents interrogés (soit 372 parents) ont déclaré acheter des jouets en plastique. Les jouets sont principalement fabriqués en plastique en raison de leur coût abordable et de leur résistance [10]. Les jouets en plastique représentent environ 72% du chiffre d'affaires des magasins de jouets [11].

CHAPITRE III. DISCUSSION

La plupart des parents interrogés achètent des jouets coûtant moins de 1000DA, représentant un pourcentage de 71% (284 parents). Ainsi, notre étude a porté sur des jouets neufs en plastique souple dont le prix était inférieur à 1000DA.

La majorité des parents, soit 76,5% (306 parents), préfèrent acheter des jouets pour leurs enfants dans des magasins spécialisés. En conséquence, les jouets pris en compte dans notre étude ont été obtenus à partir de magasins de gros, ainsi que de magasins de détail spécialisés dans la vente de jouets.

Notre sélection non aléatoire de jouets en plastique neufs s'est portée sur 271 articles en plastique souple, acquis dans de grands magasins de jouets situés dans les six wilayas de la région du Nord de l'Algérie. La répartition des jouets était la suivante : 14% provenant de Sétif, 19,5% de Constantine, 26,6% d'Annaba, 15,5% de Bejaïa, 10% d'Alger et 14,4% d'Oran.

Sur les 271 jouets sélectionnés, 198 d'entre eux, soit 73,1%, étaient d'origine chinoise, neuf (3,3%) étaient d'origine locale (Algérie). Dans 64 jouets (23,6%), le pays d'origine n'était pas spécifié. Diverses études confirment la Chine en tant que principal exportateur mondial de jouets. En 2022, la valeur des exportations de jouets chinois s'élevait à 48,36 milliards de dollars américains [237]. Bien que l'Algérie figure parmi les importateurs de jouets chinois, des statistiques précises sur ce sujet font défaut. Les données concernant la production locale sont également inexistantes. L'absence de données concernant le marché algérien des jouets a constitué un réel défi lors de la phase d'échantillonnage, nous contraignant à adopter une stratégie d'échantillonnage non aléatoire. Les raisons de cette approche comprennent :

- L'absence d'informations provenant de sources officielles (dernière enquête en 2011 [238]) ;
- L'indisponibilité de données sur l'importation des jouets ;
- Le manque d'informations sur la fabrication locale des jouets en Algérie ;
- L'absence d'une base de données exhaustive des jouets commercialisés en Algérie, empêchant la réalisation d'un échantillonnage aléatoire, ce qui aurait permis une généralisation plus fidèle des résultats à l'ensemble des jouets disponibles sur le marché algérien.

Les jouets inclus dans notre sélection appartenaient à divers types, conçus aussi bien pour les garçons que pour les filles. Les jouets en forme d'animaux représentaient la catégorie majoritaire, constituant 19,56% de l'échantillon (soit 53 jouets), suivis par les jouets de bain (18,08%), les accessoires de poupées (16,97%), les poupées (13,28%), les aliments en plastique (10,33%), les ballons (8,49%), les jouets de construction (7,38%), les balles (4,06%), les cubes (1,11%) et les miniatures de personnages (0,74%).

CHAPITRE III. DISCUSSION

III.1. IDENTIFICATION DE LA NATURE CHIMIQUE DU POLYMERE

La nature chimique du polymère des jouets a été identifiée par le test flamme de et confirmée par IR. Chaque jouet a été soumis à un test de flamme, un essai non spécifique visant à déceler la présence d'ions chlorure dans les produits. La détection de ces ions permet d'éliminer les jouets dont la composition diffère de celle du PVC [218, 220].

Sur les 271 jouets que nous avons choisis, 152 d'entre eux, équivalant à 56,1%, ont donné un résultat positif lors du test de flamme, tandis que 119 jouets, soit 43,9%, ont donné un résultat négatif.

L'analyse IR a été employée comme méthode de confirmation pour étayer les résultats positifs obtenus par le test de flamme. Suite à l'analyse IR, il a été établi que sur les 271 jouets en plastique examinés, 149 étaient constitués du polymère de type PVC, tandis que 122 étaient fabriqués à partir d'une matière autre que le PVC.

La fréquence relative des jouets en PVC souple était de 55%. Le PVC représente l'un des premiers polymères les plus utilisées dans la fabrication des jouets en plastiques [13].

L'étude menée par Njati SY et *al.* (2019) a démontré que les matériaux en PVC prédominent dans la fabrication des jouets en plastique souple destinés aux enfants [239].

La fréquence relative des jouets en PVC a été estimée à 55% dans notre étude. Plusieurs études ont révélé des résultats similaires. Al-Natsheha M et *al.* (2015) ont constaté que 63% des 73 jouets collectés sur le marché jordanien étaient en PVC. La nature chimique du polymère a été déterminée par test de flamme [16]. L'étude menée par Stringer R et *al.* (2000) a abouti à la conclusion que 64 des 72 jouets collectés dans 17 pays étaient en PVC, représentant une fréquence relative de 88,9%. La majorité de ces jouets en PVC provenaient principalement de Chine [240]. Dans l'étude menée par Bouma et *al.* (2002), la nature chimique des polymères de 62 jouets achetés aux Pays-Bas a été déterminée à l'aide du test de flamme, et les résultats ont été confirmés par IR-FTIR. Sur l'ensemble des jouets testés (n=62), 47 étaient en PVC, représentant une fréquence relative de 76% [27]. De même, dans l'expertise menée par l'ANSES en 2016, la nature chimique du polymère a été déterminée par le test de flamme, et les résultats ont été confirmés par IR-ATR. Parmi les 21 jouets examinés, 16 étaient en PVC, représentant ainsi une fréquence relative de 76,2% [3].

D'autres études ont révélé une fréquence des jouets en PVC plus faible. L'étude menée par Babich MA et *al.* (2020) a testé 63 jouets en plastique, composés d'un total de 129 pièces, vendus aux États-Unis. Sur ce total, 38 pièces se sont révélées être en PVC, représentant une fréquence relative de 30%. La nature chimique du polymère a été identifiée par IR-FTIR

CHAPITRE III. DISCUSSION

[24]. Une autre étude menée par le même auteur en 2004 sur 41 jouets souples (133 pièces) vendus aux États-Unis a révélé que 51 étaient en PVC, avec une prévalence de 38% [31].

La polyvalence du PVC, ses performances avantageuses, et surtout son coût abordable en font un matériau idéal pour diverses applications [241]. Sa rentabilité est particulièrement exploitée dans la production de jouets en plastique pour enfants, comme le souligne Ruth Stringer et *al.*, affirmant qu'il est largement utilisé dans la fabrication de jouets et d'autres produits destinés aux enfants [67]. En effet, la majorité des jouets en plastique pour enfants sont conçus à partir de PVC [242].

Nous avons observé que près d'un quart (21,5%) des jouets en PVC, soit 32 jouets, avaient une provenance inconnue, tandis que 117 jouets (soit 78,5%) étaient d'origine chinoise. La Chine demeure le principal fournisseur mondial de jouets, attirant de nombreux fabricants en raison de la main-d'œuvre abordable disponible dans le pays [68]. D'après les données de l'Association chinoise des jouets et des produits de puériculture (TJPA), l'industrie du jouet a généré des exportations d'une valeur de 248 milliards de dollars [67].

Plus de la moitié des jouets en PVC proviennent de Chine. Cette constatation rejoint les résultats de l'étude menée par Stringer R et *al.*, où la plupart des jouets en PVC analysés étaient également d'origine chinoise [240].

Parmi les 271 jouets initialement sélectionnés, 59,1% des jouets provenant de Chine étaient en PVC, tandis que 40,9% n'étaient pas en PVC. En ce qui concerne les jouets sans mention du pays d'origine, 50% étaient en PVC, et tous les jouets de production locale n'étaient pas en PVC. Une corrélation statistiquement significative a été observée entre la nature du polymère des jouets et leur pays d'origine ($p < 0,05$). Cette constatation rejoint les résultats de l'étude menée par Rangaswamy J et *al.* (2018), où 70% des jouets vendus sur le marché indien étaient d'origine chinoise, la plupart étant fabriqués en PVC [68]. Les jouets provenant de Chine vendus sur des marchés non réglementés, sans contrôles de composition, présentent une concentration plus élevée de substances chimiques nocives. La même étude a révélé que les jouets en PVC importés de Chine étaient plus toxiques que les jouets traditionnels fabriqués en Inde [68].

Plus de la moitié des jouets en PVC (53%) étaient commercialisés à un prix inférieur à 400DA. Les jouets en PVC, grâce à leur faible coût de production, sont généralement proposés à des prix abordables par rapport aux jouets fabriqués avec d'autres matériaux [83].

Diverses recherches ont établi un lien entre le prix des jouets et leur composition en substances toxiques. Une étude réalisée par Turner A. et *al.* (2018) a mis en évidence que les jouets d'occasion provenant de magasins de seconde main et de vendeurs de rue contenaient davantage

CHAPITRE III. DISCUSSION

de substances toxiques, et ces substances étaient présentes à des fréquences plus élevées que dans les jouets en plastique neufs achetés dans les grands magasins [61].

III.2. COMPARAISON DE DEUX TECHNIQUES D'IDENTIFICATION DES POLYMÈRES TYPE PVC

Le tableau 115 offre une comparaison entre les deux méthodes utilisées pour l'identification de la composition chimique du polymère.

Tableau 115. Comparaison entre le test de flamme et la spectroscopie IR [131, 217].

Technique	Test de flamme	Spectroscopie IR
Avantages	<ul style="list-style-type: none">- Manipulation facile.- Peu couteux.- Très sensible.- Permet d'éliminer les échantillons non PVC et donc de réduire la taille de l'échantillon à analyser par IR.	<ul style="list-style-type: none">- Spécifique.- Très sensible.- Permet de connaître la composition du PVC en additifs (plastifiants, pigments, <i>etc.</i>).- Facilité de traitement des données.- Technique polyvalente, rapide et fiable.- Applicable dans l'analyse de solutions aqueuses ou d'échantillons solides.- Haute gamme de linéarité.- Grande précision de la fréquence.- Simplicité mécanique.- Présente un rapport signal/bruit élevé.
Limites	<ul style="list-style-type: none">- Manque de spécificité.	<ul style="list-style-type: none">- Matériel couteux.- Prétraitement nécessaire.- Utile pour les composés organiques.- Manque de bibliothèques de spectres diversifiés.

Dans notre étude, nous avons obtenu 122 vrais négatifs et seulement trois faux positifs.

La spécificité du test de flamme a été estimée à 97,6%, cela signifie que la probabilité d'obtenir un résultat négative lorsque le jouet n'est pas en PVC avec le test de flamme est 97,6.

Cette spécificité est relativement élevée [223]. Ces résultats sont corroborés par l'étude de l'institut canadien de conservation, soulignant que le test de Beilstein est spécifique en ce qui concerne les produits chlorés [220]. Parmi les substances courantes qui produisent des résultats positifs avec le test de flamme, il convient de mentionner le PVC, le polychlorure de vinylidène, les caoutchoucs chlorés, les résines époxydes chlorés et les solvants chlorés, ainsi que tout composé contenant ces produit [220]. Il est important de noter que le test de Beilstein peut générer des résultats faux positifs, mais il n'est pas enclin à produire des faux négatifs [27].

CHAPITRE III. DISCUSSION

III.3. DETERMINATION DES TAUX DE PHTALATES (DEHP/ DINP) DANS LES JOUETS EN PVC (ESSAIS DE COMPOSITION)

Le DEHP et le DINP ont été spécifiquement étudiés dans notre travail en raison des inquiétudes liées aux expositions pédiatriques. Les jouets en plastique sont identifiés comme l'une des principales sources d'exposition des enfants aux phtalates, qui sont reconnues pour leur potentiel toxique en tant que perturbateurs endocriniens [17, 23, 35]. En plus de la fréquence élevée d'utilisation de ces deux phtalates dans les jouets en PVC souple [2, 20, 26, 29, 30, 33, 35].

La méthode CPSC-CH-C1001-09.3 a été développée et optimisée en vue de son utilisation dans le dosage de DEHP et de DINP dans les jouets en PVC commercialisés dans la région du Nord Algérien [224].

Pour garantir la fiabilité des données obtenues dans nos analyses, nous avons procédé à une validation analytique de la méthode utilisée par CG-SM. Nous avons adopté le protocole de validation SFSTP (2003-2006) [226-228], qui repose sur l'utilisation du profil d'exactitude, basé sur la notion d'erreur totale, permettant de simplifier l'approche de la validation d'une procédure analytique tout en contrôlant le risque associé à son utilisation.

Les paramètres étudiés comprenaient la sélectivité, la linéarité, l'exactitude, la LD et la LQ.

La méthode validée a été adoptée pour quantifier le DEHP et le DINP dans les jouets en plastique, dont la nature chimique PVC a été préalablement confirmée.

Le dosage des phtalates est rendu délicat aux très faibles concentrations compte tenu d'une contamination très fréquente de ces molécules par l'environnement extérieur. Cette difficulté est connue et largement reportée dans la littérature [3].

III.3.1. Détermination des taux de phtalates dans les jouets en PVC souple

135 jouets parmi les 149 en PVC contenaient au moins un des phtalates analysés (DEHP ou DINP) à des concentrations détectables, représentant ainsi 90,6%. Plus spécifiquement, 90,6% des jouets analysés contenaient du DEHP. Parallèlement, 55 jouets (soit 36,9%) parmi les 149 analysés ont montré des concentrations de DINP dépassant les LD.

En outre, sur les 149 jouets en PVC analysés, 129 jouets (soit 86,6%) ont présenté des teneurs en DEHP supérieures aux LQ, tandis que 44 jouets (soit 29,5%) ont présenté des teneurs en DINP dépassant ces limites. Il est important de noter qu'aucun jouet ne contenait uniquement du DINP, ce dernier étant toujours présent en association avec le DEHP.

Le DEHP suscite le plus d'inquiétudes, avec plus de deux millions de tonnes produites annuellement [20]. Il était le plastifiant le plus utilisé dans les jouets souple en PVC, en raison de son faible coût [2, 20, 29, 33]. Cependant, en raison de la preuve de sa toxicité pour

CHAPITRE III. DISCUSSION

la reproduction, il a été remplacé progressivement par le DINP, moins toxiques avec des performances proches à celle du DEHP. Le DINP est actuellement le plastifiant le plus utilisé dans les jouets [26, 29, 30, 35, 230]. La fréquence de détection et la concentration élevées de DEHP pourraient être associées à ses bonnes performances en tant que plastifiant et à son prix relativement bas [73, 243]. Le DEHP est de moins en moins utilisé en Europe et aux États-Unis, mais son utilisation est toujours importante en Asie ; d'où la forte probabilité que des jouets en plastique souple importés en Algérie, plus particulièrement de la Chine puissent contenir le DEHP [11, 19].

Selon les données de Kim DY et *al.* (2020), au début des années 2000, le DINP était le plastifiant dominant dans les jouets en PVC, représentant 44% de la concentration, tandis que le DEHP était le deuxième en importance. À partir de la fin des années 2000, le DEHP est devenu l'ester de phtalates le plus utilisé, constituant plus de 50% de la production totale de phtalates [243].

La teneur moyenne de DEHP dans les 129 jouets où le DEHP a été quantifié était de $7,63 \pm 9,80\%$. La valeur maximale était de 36,20%, tandis que la valeur minimale était de 0,02%. Notamment, 50% des jouets contenant du DEHP à une teneur quantifiable présentaient une teneur comprise entre 0,13% et 13,99%.

Quant à la teneur moyenne de DINP dans les 44 jouets où le DINP a été quantifié, elle s'élevait à $4,69 \pm 10,14\%$. La valeur maximale était de 35,42%, avec une valeur minimale de 0,15%. À souligner que 50% des jouets contenant du DINP à une teneur quantifiable présentaient une teneur située entre 0,33% et 1,48%.

Selon l'étude de l'ANSES en 2016, l'essai de composition réalisé sur 16 jouets en PVC destinés aux enfants de moins de 3 ans, vendus à Marseille, a révélé que le DEHP était prédominant dans les jouets analysés, quantifié dans 25% des échantillons, avec une teneur variant de 0,18% à 14,7%, des teneurs légèrement plus faible que celle trouvée dans notre étude. Le DINP a été détecté dans un seul jouet, avec une teneur de 4% [3].

Selon l'étude d'Al-Natsheh M et *al.* (2015), l'essai de composition réalisé sur 17 jouets en PVC vendus en Jordanie a révélé que le phtalate le plus prédominant était le DEHP, détecté dans 76% des jouets en PVC analysés, avec une concentration allant de 0,50% à 29,60%. Le DINP a été détecté dans 18% des jouets analysés, avec des concentrations plus faibles que celles quantifiées dans notre étude, allant de 2,30% à 3,19% [16].

Des valeurs proches à nos résultats ont été décrites dans la littérature. Rastoji SC et *al.* (2003) a étudié l'essai de composition sur 15 jouets destinés aux enfants moins de 3 ans, vendus au Danemark. Un ou plusieurs phtalates ont été trouvés dans 66,67% des jouets avec

CHAPITRE III. DISCUSSION

prédominance du DEHP. Parmi les phtalates étudiés, DEHP a été détecté dans quatre échantillons (0,037-28,98%) et le DINP dans trois échantillons (1,20-37,29%) [28].

Dans l'étude entreprise par Zareh M.M. et *al.*, en 2020, pour évaluer les niveaux de phtalates, notamment le DEHP, dans 20 jouets pour enfants vendus sur le marché égyptien, le DEHP a été identifié dans 90% des échantillons, avec des concentrations variant de 0,0035% à 0,68% [23].

Selon une enquête d'évaluation sanitaire des phtalates dans les jouets vendus au Danemark réalisée en 2015 par l'agence danoise de protection de l'environnement (DEPA), 34 jouets en PVC ont été soumis à un essai de composition. L'analyse a porté sur 7 phtalates, dont le DEHP et le DINP. Le DEHP était présent dans 41,2% des échantillons, avec une teneur minimale de 0,005 % et une valeur maximale de 28%. Le DINP a été détecté dans une proportion plus faible des jouets, soit 6%, avec une teneur variant de 0,2% à 25% [20].

Selon l'étude d'Akkbik M et *al.* (2020), qui a examiné la composition de 30 jouets en PVC vendus en Turquie, les teneurs en phtalates étaient plus faibles que celle révélées dans notre étude. L'essai de composition a révélé que tous les échantillons présentaient la présence d'au moins un ou plusieurs phtalates, avec une quantité totale de phtalates comprise entre \leq 0,011% et 0,752%. Le DINP a été détecté également dans tous les échantillons, avec des concentrations allant de \leq 0,003% à 0,257%, indiquant une tendance marquée vers l'abandon du DEHP. Le DEHP a été détecté dans 10% des échantillons, avec une teneur maximale de 0,358% [242].

Selon l'étude de Johnson S et *al.* (2010-2011), qui a examiné la composition de 24 jouets plastiques pour enfants disponibles sur le marché indien, tous les échantillons analysés ont montré la présence d'un ou plusieurs phtalates, principalement le DEHP et le DINP, à des concentrations allant de moins de 0,1% à 16,22%. Comme dans notre étude, le DEHP était prédominant, détecté dans 96% des échantillons avec une concentration allant de moins de 0,1% à 2,6%. Le DINP a été détecté dans 42% des échantillons, dans une fourchette de moins de 0,1% à 16,2%. Cependant, contrairement à nos résultats, la teneur en DINP a été trouvée en très forte concentration par rapport au DEHP (16,2% et 2,6% respectivement) [26, 29].

Babich et *al.* (2002-2004) ont réalisé un essai de composition sur 41 jouets en plastique souple vendus aux États-Unis, comprenant un total de 133 pièces, dont 38% étaient en PVC. L'étude a ciblé exclusivement le DINP. 42% des jouets en plastique souple testés contenaient du DINP, une proportion similaire à celle de notre échantillon. La teneur en DINP variait de 12,9% à 39,4% en poids, avec une moyenne de 30%, nettement supérieure à notre moyenne (4,69%) [30, 31].

CHAPITRE III. DISCUSSION

Babich MA et *al.* (2020) ont réalisé un essai de composition sur 63 jouets en plastique vendus aux États-Unis, comprenant un total de 129 pièces, dont 30% (soit 38 pièces) étaient en PVC. Le DINP a été détecté dans un seul jouet (2,6%) parmi les échantillons en PVC, avec une concentration de 41,9%. Le DEHP a également été détecté dans un seul jouet (2,6%) parmi les échantillons en PVC, avec une concentration de 6,0%. Ces fréquences sont nettement inférieures aux résultats obtenus dans notre étude, ce qui peut être attribué à l'absence d'une réglementation sur les phtalates dans les jouets en Algérie, contrairement aux États-Unis où la réglementation actuelle est bien définie et appliquée [24].

Korfali SI et *al.* (2013) ont analysé la teneur en phtalates dans les jouets en plastique vendus sur le marché libanais. Comme dans notre échantillon, le phtalate le plus fréquemment rencontré était le DEHP, avec une concentration variant de 1,23% à 22,9% [10].

D'après l'étude menée par Ashworth MJ et *al.* (2018), l'analyse des phtalates dans 49 échantillons de jouets en plastique souple vendus en Nouvelle-Zélande a révélé que la concentration la plus élevée signalée pour un phtalate individuel était celle du DEHP, représentant 54% en masse de l'échantillon analysé. Cette valeur est nettement supérieure à la teneur maximale en DEHP obtenue dans notre échantillon (36,20%). En revanche, la valeur maximale du DINP (32,3%) était proche à celle de notre échantillon (35,42%). Les teneurs moyennes en DEHP (8,62%) et en DINP (6,20%) étaient proches de nos résultats [32].

Dans notre ensemble d'échantillons, la répartition des concentrations de phtalates n'était pas homogène, avec des concentrations prédominantes observées principalement entre 0,13% et 13,99% pour le DEHP (50% des valeurs) et entre 0,33% et 1,48% pour le DINP. Ces constatations concordent avec les résultats de l'étude menée par Ashworth MJ et *al.* (2018) [32].

Dans l'étude menée par Stringer R et *al.* (2000), 72 jouets ont été achetés dans des magasins de détail répartis dans 17 pays (Royaume-Uni, États-Unis, Argentine, Australie, Belgique, Canada, Danemark, France, Allemagne, Inde, Indonésie, Japon, Pays-Bas, Autriche, Philippines, Espagne, Suède). Dix phtalates, dont le DEHP et le DINP, ont été analysés dans ces jouets. Les principaux phtalates détectés étaient le DINP et le DEHP. Contrairement à nos résultats, le DINP était le phtalate le plus fréquemment trouvé dans les échantillons de jouets et tendait à être présent dans des concentrations plus élevées, allant de 0,4% à 51%. En revanche, le DEHP était le deuxième phtalate le plus fréquemment détecté, mais à des concentrations plus faibles, allant de 0,01% à 19,1% [240].

Parmi les 149 jouets en PVC souple analysés dans notre travail, 55 d'entre eux, soit 36,9%, contenaient les deux phtalates simultanément à des concentrations supérieures aux LD

CHAPITRE III. DISCUSSION

de chaque phtalate (0,12µg/ml, équivalent à 0,0042% pour le DEHP et 0,67µg/ml, équivalent à 0,023% pour le DINP). Parmi ces 55 jouets, 44 d'entre eux contenaient un taux quantifiable de ces deux phtalates, représentant ainsi 29,53% de l'échantillon.

Il est important de noter que la détection et la quantification de DINP s'accompagnaient systématiquement de la détection et de la quantification de DEHP dans tous les cas analysés, tandis que l'inverse n'était pas toujours vrai. Il est admis que les préparations techniques du DINP peuvent contenir de plus petites quantités de DEHP en tant que contaminant du processus de fabrication [240].

La moyenne était de $4,33 \pm 6,43\%$ pour le DEHP et de $4,69 \pm 10,14\%$ pour le DINP. 50% des valeurs de DEHP se situaient entre 0,08% et 7,39% pour le DEHP, tandis que pour le DINP, elles se trouvaient entre 0,33% et 1,48%. La valeur la plus élevée a été observée avec le DINP (35,42%).

Dans notre étude, plusieurs jouets contenaient des teneurs élevées de DINP et des traces de DEHP ou *vice versa*. Cela est très probablement dû au fait que le phtalate était présent en tant qu'impureté. Dans 19 des jouets examinés, la quantité totale des deux phtalates analysés était inférieure à 1%, représentant ainsi 43,2%. Dans plusieurs échantillons analysés, le taux de phtalates était à des concentrations trop faibles pour avoir une fonction plastifiante, car un niveau minimal de 10% de phtalates, en poids, est requis pour obtenir l'effet plastifiant sur le PVC [5, 32]. Trois explications possibles de la présence de ces phtalates à une faible concentration sont proposées, en tant que contaminant d'un autre phtalate ; constituant d'une encre ou d'une peinture utilisée sur le jouet ou par l'utilisation du phtalate dans l'installation qui a fabriqué le jouet, soit en tant que produit de nettoyage, soit en tant qu'auxiliaire de fabrication, soit dans un autre produit [240].

Dans l'étude de Bouma et *al.* (2002), un essai de composition a été réalisé sur 47 jouets en PVC acheté aux Pays-Bas et il a analysé les mêmes phtalates étudiés (DEHP/DINP). Le DINP était le plastifiant prédominant. Le DINP et le DEHP étaient souvent trouvés simultanément, l'un d'eux en faible concentration [27]. Le DEHP et le DINP ont été ajoutés comme plastifiant du PVC dans les mêmes quantités, dans la plupart des cas de 30 à 45% en poids. La teneur en DEHP était de 3% à 44%, tandis que la teneur en DINP était 16% à 48%. Le DINP était présent dans 79% des échantillons, tandis que le DEHP était présent dans 43% des échantillons [27].

Le tableau 116 compare les teneurs de DEHP et/ou DINP (%p/p) de notre étude avec celles décrites dans la littérature.

CHAPITRE III. DISCUSSION

Tableau 116. Comparaison des teneurs de DEHP /DINP (% p/p) de notre étude avec la littérature.

Études Année	Pays	Taille de l'échantillon (n)	DEHP (% p/p)	DINP (% p/p)
Notre étude, 2024	Algérie	149 jouets en PVC	0,02% - 36,20%	0,15% - 35,42%
Zareh M.M. et al., 2020 [23]	Egypte	20 jouets	0,0035% - 0,68%	/
Babich MA et al., 2020 [24]	États-Unis	38 jouets en PVC	Moyenne 6,0%	Moyenne 41,9%
Akkbik M et al. 2020 [13]	Turquie	30 jouets en PVC	<0,1% - 0,358%	≤ 0,003 - 0,257%
Ashworth MJ et al., 2018 [32]	Nouvelle-Zélande	49 jouets en plastique souple	0,1% - 54,1%	0,1% - 32,3%
ANSES, 2016 [3]	France	16 jouets en PVC	0,18% - 14,7%	4%
DEPA, 2015 [20]	Danemark	34 jouets en PVC	0,005% - 28%	0,2% - 25%
Al-Natsheh M et al., 2015 [16]	Jordanie	17 jouets en PVC	0,50% - 29,60%	2,30% - 3,19%
Korfali SI et al., 2013 [10]	Liban	10 jouets en plastique	1,23% - ≤ 22,9%	/
Johnson S et al., 2010-2011 [26, 29]	Inde	24 jouets plastiques	<0,1% - 2,6%	<0,1% - 16,2%
Babich et al., 2002-2004 [30, 31]	États-Unis	41 jouets en plastique	/	12,9% - 39,4%
Rastoji SC et al., 2003 [28]	Danemark	15 jouets en plastique souple	0,037% - 28,97%	1,20% - 37,29%
Bouma et al., 2002 [27]	Pays-Bas	47 jouets en PVC	3% - 44%	16% - 48%
Stringer R et al., 2000 [240]	17 pays	72 jouets	0,01% - 19,1	0,4% - 51%

III.3.2. Comparaison des taux de phtalates aux normes internationales

Quels que soient les ressources naturelles et le niveau de développement économique d'un pays, les enfants représentent l'avenir et il convient donc de veiller à leur développement optimal et de les protéger [48]. En effet, plusieurs pays ont établi des réglementations rigoureuses, limitant la concentration de phtalates dans les jouets. Les réglementations de l'UE, des États-Unis, et du Canada prévoient un niveau maximal autorisé de 0,1% en poids de jouet [49-53]. La limite réglementaire de 0,1% des différents phtalates dans les jouets, équivaut à une interdiction des phtalates dans les plastiques, car un niveau minimal de 10% de phtalates, en poids, est requis pour obtenir l'effet plastifiant sur le PVC [5, 32].

Le DEHP est limité dans les jouets dans l'UE depuis 2007 et le DINP est restreint dans les jouets qui peuvent être mis en bouche depuis 2007 [230].

CHAPITRE III. DISCUSSION

En l'absence d'une réglementation spécifique en Algérie concernant les phtalates dans les jouets, nous avons choisi de suivre les normes internationales en la matière.

Sur l'ensemble des jouets analysés et qui ont révélé un taux de DEHP quantifiable (n=129), 98 jouets contenaient le DEHP avec des teneurs dépassant 0,1%. Cela représente 75,97% des 129 jouets testés et représente 65,8% des jouets en PVC souple analysés (n=149). En d'autre terme, le DEHP était l'origine de la non-conformité de 65,8% des jouets en PVC (soit 98 jouets). Notre étude a mis en évidence des concentrations de DEHP très variables dans ces jouets, la concentration moyenne était de 10,03%. La valeur maximale observée était de 36,20%, tandis que la valeur minimale était de 0,13%. 50% des jouets non conformes à cause du DEHP avaient une teneur variant entre 0,46% et 17,77%. Le pourcentage massique le plus élevé mesuré (36,20%) étant plus de 362 fois supérieur à la limite autorisée dans de nombreux pays. D'après la littérature scientifique, la teneur en DEHP des matériaux polymères souples varie, elle se situe souvent autour de 30% en poids [19].

Sur l'ensemble des jouets en PVC souple analysés, qui ont révélé un taux de DINP quantifiable (n=44), les 44 jouets contenaient du DINP avec des concentrations dépassant 0,1%, représentant ainsi 100% de ces jouets. Cela représente 29,5% des jouets en PVC souple analysés (n=149). Cela signifie que la non-conformité de 29,5% des jouets en PVC était liée au DINP.

La moyenne de DINP dans ces jouets non conformes était de 4,69%. La valeur maximale observée était de 35,42%, tandis que la valeur minimale était de 0,15%. Le pourcentage massique le plus élevé mesuré (35,42%) étant plus de 354 fois supérieur à la limite autorisée dans de nombreux pays.

112 jouets en PVC contenaient une teneur supérieure à 0,1% d'au moins un phtalates (DEHP et/ou DINP), représentant ainsi 75,2% des jouets en PVC (n=149). Nous avons conclu que 75,2% des jouets en PVC analysés étaient non conformes par rapport à leur teneur en phtalates. Dans ces jouets non conformes, le taux total moyen des deux phtalates était de 10,63%. La valeur maximale observée était de 42,82%, tandis que la valeur minimale était de 0,15%.

Sur l'ensemble des jouets en PVC souple analysés (n=149), 30 jouets (soit 20,13%) étaient non conformes par rapport à leur teneur en DEHP et en DINP, c'est-à-dire que la teneur de chaque phtalate analysé dépassait la norme individuellement.

Dans ces 30 jouets analysés, le taux maximum du DEHP mesuré était de 25,77%, tandis que le taux maximum de DINP était de 35,42%.

Parmi ces 30 jouets non conformes, le taux maximal de DEHP (25,77%) a été observé dans une poupée (C₄₆). Dans le même jouet, la teneur en DINP était de 3,28%, et la somme des deux phtalates atteignait 29,05%. La teneur maximale de DINP (35,42%) a été révélée dans un jouet

CHAPITRE III. DISCUSSION

de bain (B₁₈), avec une teneur de DEHP de 7,40%, et la somme des deux phtalates atteignait 42,82%.

Les phtalates sont mélangés aux polymères à des concentrations variables (jusqu'à 50%), afin d'obtenir un degré souhaitable de flexibilité et de souplesse de jouet [14-17]. Un niveau minimal de 10% de phtalates, en poids, est requis pour obtenir l'effet plastifiant sur le PVC [5, 32].

Nos résultats sont en accord avec l'enquête d'évaluation sanitaire des phtalates dans les jouets réalisée au Danemark en 2015 par DEPA, où le DEHP était la principale cause de non-conformité des jouets [20].

Selon l'étude menée par Johnson S et *al.*, plus de la moitié des échantillons de 24 jouets en plastique disponibles sur le marché indien dépassaient la limite de l'UE (0,1%). La concentration maximale de DINP dépassait la norme de 0,1% de 162 fois, tandis que la concentration maximale de DEHP dépassait la norme de 26 fois dans leur étude. En contraste, dans notre étude, la concentration maximale de DEHP était 362 fois supérieure à la norme, et la concentration maximale de DINP était 354 fois supérieure à la norme, nettement supérieurs aux résultats de Johnson S et *al.* Il est important de noter que l'Inde ne dispose d'aucune réglementation spécifique concernant les phtalates dans les jouets [26, 29].

Des constatations similaires ont été relevées dans l'étude effectuée par Ashworth MJ et *al.* (2018) en Nouvelle-Zélande. Environ 65% des jouets présentaient une concentration d'au moins un phtalate supérieure à 0,1% en poids, et 35% des jouets contenaient plusieurs phtalates, chacun dépassant 0,1% en concentration individuelle. La principale cause de non-conformité des jouets était le DEHP, détecté dans 35% des échantillons à une concentration dépassant 0,1%. Tout comme dans notre étude, le DINP était responsable de la non-conformité de 29% des jouets analysés. Il est important de noter que la Nouvelle-Zélande ne dispose d'aucune réglementation spécifique concernant les phtalates dans les jouets. La concentration maximale signalée de DEHP, à 54% en poids de l'échantillon analysé, dépassait plus de 500 fois les limites autorisées dans de nombreux pays [32].

L'étude menée par Al-Natsheh M et *al.* en 2015, portant sur 17 jouets en PVC vendus en Jordanie, a révélé que tous les jouets en PVC contenaient des phtalates totaux (comprenant 8 phtalates, notamment le DEHP et le DINP) à des concentrations dépassant la limite autorisée de 0,1%. La principale cause de non-conformité était attribuée au DEHP dans la majorité des cas, par rapport au DINP (76% et 18% respectivement), des résultats similaires aux nôtres. Le pourcentage massique le plus élevé de DEHP (29,60%) dépassait de plus de 296 fois les limites autorisées dans de nombreux pays. De même, le pourcentage massique le plus élevé

CHAPITRE III. DISCUSSION

de DINP (3,19%) dépassait de plus de 31,9 fois les limites autorisées dans de nombreux pays [16].

Dans l'étude entreprise par Zareh M.M. et *al.*, en 2020, la comparaison avec les normes égyptiennes (0,1% p/p) a révélé la présence de phtalates dans la plupart des échantillons, dépassant les valeurs autorisées. Le DEHP était la cause de la non-conformité dans 15% des échantillons, une proportion nettement inférieure à nos résultats (65,8%) [39]. La valeur maximale était 6,8 fois supérieure à la norme [23].

Dans l'étude menée par Akkbik M et *al.* (2020) en Turquie, la quantité totale de phtalates a dépassé la limite de l'UE pour les jouets dans plus de 40% des échantillons, avec des concentrations variant entre $\leq 0,011\%$ et $0,752\%$. La concentration maximale de DINP (0,257%) dépassait la norme de seulement 2,5 fois, contrairement à notre échantillon où le taux maximal (35,42%) a dépassé la norme de 354%. Ceci s'explique principalement par l'absence de réglementation concernant les phtalates en Algérie, ce qui fait de l'Algérie un importateur de jouets, quelle que soit leur teneur en phtalates. Le DEHP a été détecté dans 10% des échantillons, dépassant la limite de l'UE dans un jouet sur 30, avec une concentration 3,5 fois supérieure à la norme (0,358%) [242].

Des constatations comparables ont été observées dans l'étude menée par Korfali SI et *al.* (2013), où les phtalates ont été détectés dans 60% des jouets disponibles sur le marché libanais, dépassant 0,1%. Le DEHP était la principale source de non-conformité des jouets, avec des concentrations variant de 1,23% à $\leq 22,9\%$ [10].

Dans l'objectif d'évaluer la teneur en phtalates dans des jouets commercialisés en Europe, une activité a été menée par dix-sept autorités européennes de surveillance du marché sous la coordination de PROSAFE. PROSAFE, acronyme de « Product Safety Enforcement Forum of Europe », est un réseau de coopération européen qui réunit les autorités nationales de surveillance du marché. Son objectif principal est de renforcer la sécurité des produits sur le marché européen en favorisant la coopération entre les autorités de réglementation des États membres de l'UE. PROSAFE travaille à la coordination des actions de surveillance du marché et à l'amélioration de l'application des règlements sur la sécurité des produits. 255 jouets en plastique issus des pays de l'espace économique européen ont été analysés par rapport à leur teneur en phtalates entre autre le DEHP et le DINP. 18% des jouets analysés contenaient au moins un phtalate, avec une concentration supérieure aux limites stipulées dans la législation (0,1%). Le DEHP et le DINP étaient les deux phtalates prédominants qui ont été trouvés en concentrations supérieures aux limites stipulées dans la législation. Le nombre le plus élevé de la non-conformité était attribué au DEHP suivi par le DINP. Le DEHP a été détecté dans

CHAPITRE III. DISCUSSION

environ 17% des jouets analysés à une concentration $> 0,1\%$. DINP a été détecté dans environ 10% jouets en plastique à une concentration supérieur à $0,1\%$ [34].

Il a été noté que les animaux, les jouets de bain et les poupées étaient majoritairement non conformes, avec une corrélation statistiquement significative ($p < 0,05$). Cependant, cette observation pourrait être attribuable à un biais de sélection, étant donné que ces types de jouets étaient prédominants dans notre échantillonnage.

75,2% des jouets en PVC analysés (soit 112 jouets) étaient non conformes en termes de taux d'au moins un des deux phtalates analysés. Dans ces jouets, les animaux en plastique constituaient la majeure partie (31,3%), soit 35 jouets. Suivi par les jouets de bain qui constituaient 29,5%, soit 33 jouets et les poupées qui représentaient 22,3%, soit 25 poupées. Ces trois types représentent plus de 80% des jouets non conformes.

Le plus grand nombre de non-conformité par rapport au type de jouet était observé dans les animaux en plastique (94,6%) suivi par les poupées (75,7%) et les jouets de bain (68,7%). L'étude de PROSAFE en 2018, a ciblé essentiellement des poupées en plastique (121, 48%), les jouets gonflables (30, 12%), les livres de jouets en plastique (34, 13%) et les jouets de bain (70, 27%), car ils ont tous été identifiés comme ayant le plus grand nombre de notifications de non-conformité par rapport à la concentration en phtalates [34]. Contrairement à notre étude, le principal problème résidait dans les poupées en plastique, pour lesquelles l'étude a enregistré un taux de non-conformité de 26,4% (soit 32) sur un total de 121 poupées testées pour les phtalates. Dans le cas des jouets de bain, le taux de non-conformité était de 12,9%. Aucun des 34 livres de jouets en plastique testés ne présentait une non-conformité liée aux tests de phtalates [34].

Dans notre étude, la non-conformité des animaux en plastique ($n=35$) était principalement liée au DINP, dépassant la norme dans 77,14% de ces jouets, avec une valeur maximale de 1,71%. De plus, le taux de DEHP a dépassé la norme dans 65,71% de ces jouets, atteignant un maximum de 19,75%, soit 197,5 fois supérieur à la norme. Dans 42,86% des animaux en plastique, la non-conformité était attribuée aux taux simultanés de DEHP et DINP, les deux dépassants la norme de 0,1%.

Dans les jouets de bain non conformes ($n=33$), le DEHP a dépassé la norme dans tous les cas, atteignant un taux maximal de 36,20%, soit 362 fois supérieure à la norme. Le DINP dépassait la norme dans 27,3% de ces jouets, en association avec le DEHP.

Dans les poupées non conformes ($n=25$), la non-conformité était principalement attribuée au DEHP, dépassant la norme dans tous les jouets non conformes de cette catégorie, avec une valeur maximale de 32,08%, soit 320,8 fois supérieur à la norme. En outre, le taux de DINP

CHAPITRE III. DISCUSSION

a dépassé la norme dans seulement 16% de ces jouets, la valeur maximale était de 5,09%. Dans ces cas spécifiques, le DEHP était également présent, avec une teneur dépassant la norme de 0,1%.

Dans le cas des ballons non conformes (n=8), le DEHP était la principale raison de la non-conformité, affectant 87,5% des ballons, avec une concentration maximale mesurée à 7,14%. Le DINP dépassait la norme dans 37,5% des ballons. Dans 25% des ballons, la non-conformité était attribuée à la fois au DEHP et au DINP.

Un seul jouet de type miniatures de personnage était non conforme par rapport à sa teneur en DEHP (27,78%), soit 277,8 fois supérieure à la norme.

Dans les balles non conformes (n=7), le DEHP était le seul responsable de la non-conformité, atteignant une valeur maximale de 21,01%.

La non-conformité des cubes plastiques était exclusivement attribuée au DINP, avec une teneur de 13,55%. Pour les accessoires non conformes (n=2), le DEHP était la cause de la non-conformité, atteignant une valeur maximale de 6,44%.

La plus forte concentration de DEHP a été observée dans les jouets de bain, tandis qu'il était absent dans les cubes en PVC. De même, la concentration la plus élevée de DINP a été relevée dans les jouets de bain, et il était absent dans les miniatures en PVC, les balles et les accessoires pour poupées.

Dans l'étude de PROSAFE, le DEHP était la cause de non-conformité des poupées dans 97% des cas et 100% de non-conformité des jouets de bain. Ces résultats sont similaires à nos propres conclusions, où la non-conformité des poupées (n=25) était attribuée au DEHP dans 100% des cas, de même que pour les jouets de bain (100%) [34].

Contrairement à nos résultats, où le DINP était la cause de la non-conformité dans seulement 16% des poupées non conformes, le DINP était responsable de la non-conformité des poupées dans 56% des poupées analysées dans l'étude de PROSAFE [34].

Dans les jouets de bain non conformes (n=33), le DINP dépassait la norme dans 27,3% de ces jouets, cela concorde avec l'étude de PROSAFE où le DINP était la cause de non-conformité de 33% des jouets de bain [34].

Selon l'étude menée par Bouma et *al.*, en 2002 aux Pays-Bas, portant sur 19 parties de poupées en PVC, le DEHP était la cause de la non-conformité dans 4 cas, représentant ainsi 21,05%. Le DINP était responsable de la non-conformité dans 14 cas, soit 73,7%. Pour un total de 5 animaux en PVC, le DINP était le seul responsable de la non-conformité dans 4 animaux, soit 80%, avec une valeur maximale de 34% [27].

CHAPITRE III. DISCUSSION

En revanche, dans notre étude, concernant les animaux en plastique (n=35), la non-conformité était principalement liée au DINP, dépassant la norme dans 77,14% de ces jouets, avec une valeur maximale de 1,71%. De plus, le taux de DEHP a dépassé la norme dans 65,71% de ces jouets, atteignant un maximum de 19,75%, soit 197,5 fois supérieur à la norme.

Selon la même étude, sur un ensemble de six jouets de bain, le DINP était la seule cause de non-conformité dans 66,67% des cas (soit 4 jouets), avec une concentration maximale de 42%. Aucune présence de DEHP n'a été observée dans ce type de jouet, ce qui diffère de nos résultats, où le DEHP était la principale cause de non-conformité des jouets de bain, touchant 100% des jouets, tandis que seulement 27,3% étaient liés au DINP [27].

Dans cette étude, deux ballons en PVC ont été examinés, et la non-conformité était répartie de manière égale entre le DEHP, responsable de 50% des cas, et le DINP, impliqué dans les 50% restants de la non-conformité [27].

Selon DEPA (2015), le DEHP était responsable de la non-conformité de 16,67% des ballons, avec une concentration maximale de 26%, soit 260 fois plus élevée que la norme européenne. En revanche, dans notre étude, le DEHP était responsable de la non-conformité de 87,5% de ce type de jouet. Pour le DINP, il était la cause de la non-conformité de 16,67% des ballons, avec une concentration maximale de 25%, soit 250 fois plus élevée que la norme européenne, alors que dans notre étude, le DINP était responsable de la non-conformité de 37,5% de ce type de jouet. Concernant les poupées incluses dans l'étude, le DEHP était responsable de la non-conformité de 42,86% des poupées, avec un maximum de 28%, tandis que dans notre étude, le DEHP était la cause de la non-conformité de 100% de ce type de jouet, avec un maximum estimé à 32,08%. Dans la même étude, aucune non-conformité des poupées n'était attribuée au DINP [20].

Dans l'étude menée par l'ANSES en 2016, sur 8 poupées, le DEHP était la cause de la non-conformité d'une seule poupée, représentant ainsi 12,5% de ce type de jouets, avec une concentration de 0,18%, un résultat nettement inférieur à notre constat (100%). Aucune non-conformité n'a été attribuée au DINP dans ce type de jouets [3]. Pour les animaux en plastique, le DEHP était à l'origine de la non-conformité dans 50% des animaux inclus, avec une concentration maximale de 14,7%, légèrement inférieur à notre résultat estimé à 65,71%. Dans la même étude, le DINP dépassait la norme fixée à 0,1% dans 50% des cas, avec un maximum de 3,8%, tandis que dans notre échantillon, le DINP était non conforme dans 77,14% des animaux [3]. En ce qui concerne les jouets de bain, aucune non-conformité n'a été attribuée ni au DINP ni au DEHP [3].

CHAPITRE III. DISCUSSION

Nous avons constaté l'existence d'une relation statistiquement significative entre la non-conformité des jouets et le prix d'achat bas ($p < 0,05$). Le large éventail d'applications combiné à des prix relativement bas ont fait des phtalates le choix de plastifiant préféré et le plus utilisé dans l'industrie du PVC [3, 14, 18-21]. Les jouets en PVC moins chers peuvent contenir des niveaux plus élevés de phtalates, principalement en raison du recyclage de matériaux contaminés ou de l'absence de réglementation pour les matières premières [242].

Dans notre échantillons, parmi tous les jouets identifiés comme étant en PVC, il a été observé que près d'un quart, soit 21,5% (32 jouets), provenaient d'une source inconnue, tandis que 117 jouets, soit 78,5%, étaient d'origine chinoise. D'après l'étude de Johnson S et *al.*, 2010-2011, sur la base du pays d'origine, la Chine arrive en tête des pays dans lesquels la teneur en phtalates dépasse la limite de l'UE ; 57% des jouets fabriqués en Chine dépassent la limite de l'UE [26, 29].

III.4. ESSAI DE MIGRATION SALIVAIRE *IN VITRO*

III.4.1. Taux de migration salivaire des phtalates *in vitro*

Les phtalates ne sont pas liés de manière covalente à la matrice du polymère PVC, ils peuvent migrer facilement vers le milieu qui entre en contact avec eux [2, 5, 20, 22-24]. Ceci explique l'exposition potentielle des enfants en raison de leur comportement de mise en bouche et la migration des phtalates dans la salive [15, 25]. Plusieurs études ont signalé la présence de niveaux élevés de phtalates dans les jouets et leur migration potentiel [3, 10, 13, 16, 20, 24, 26-34].

La méthode de migration de phtalates *in vitro* du JRC visait à produire un taux de migration équivalent au taux de migration maximal, plutôt qu'au taux de migration moyen, *in vivo* [31].

Le test de migration salivaire *in vitro* a été exécuté sur les jouets en PVC non conformes, pour lesquels la partie restante du jouet permettait d'obtenir une surface totale de 10cm². Certains jouets n'ont pas été soumis au test en raison de leur dimension ou de leur configuration. Chaque jouet inclus dans cette évaluation a fait l'objet de mesures des taux de migration (exprimés en µg/10cm²/min) pour les deux plastifiants, le DEHP et le DINP.

Parmi les 112 jouets non conformes, le test *in vitro* de migration salivaire a été effectué sur 97 d'entre eux, représentant ainsi 86,61%. Pour l'ensemble des jouets en PVC inclus dans notre étude (n=149), le test de migration salivaire *in vitro* a été réalisé sur 97 jouets, soit une proportion de 65,10%.

En ce qui concerne les jouets dépassant la norme de DEHP (n=98), le test de migration salivaire *in vitro* a été appliqué sur 84 jouets, représentant 85,71% de cet échantillon spécifique.

CHAPITRE III. DISCUSSION

Le DEHP a été détecté et quantifié dans 44 jouets parmi les 84 jouets contenant un taux de DEHP dépassant la norme et qui ont subi un test de migration *in vitro*, soit 52,4%.

Le taux de migration moyen de DEHP était de $1,54 \pm 0,92 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, le maximum était de $4,51 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ et le minimum était de $0,11 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$.

La fréquence de migration la plus élevée a été observé dans les poupées où 100% des poupées analysé ont révélé une migration du DEHP dans la salive artificielle, suivi par les jouets de bain, sur 32 jouets soumis au test de migration, 23 ont révélé une migration du DEHP, soit 71,87%.

La fréquence de migration était plus faible avec les animaux en plastique (2 sur 33, soit 6,06%) et dans les ballons (1 sur 8, soit 12,5%).

Le taux de migration de DEHP le plus élevé estimé à $4,51 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ a été révélé dans le jouet (O₂₉) qui était un jouet de bain. Le taux le plus faible a été observé dans une poupée (A₁₆), ($0,11 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)

Le test de migration salivaire *in vitro* a été appliqué sur 42 jouets parmi les 44 jouets présentant un taux de DINP supérieur à la norme, soit 95,45%.

Parmi ces 42 jouets, le DINP a été détecté et quantifié dans 6 jouets (soit 14,28%).

Le taux moyen de migration du DINP s'est établi à $1,90 \pm 1,34 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, avec une valeur maximale de $4,25 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ et une valeur minimale de $0,42 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. Le jouet B₁₆, un jouet de bain, a affiché le taux de migration le plus élevé ($4,25 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$), tandis qu'un ballon (S₂) a présenté le taux le plus bas ($0,42 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$).

Le DINP a présenté une migration dans 12,5% des jouets (4 sur 32) et dans 12,5% des ballons (1 sur 8) inclus dans ce test.

Nous avons constaté que les taux de migration du DEHP étaient comparables à ceux du DINP, en raison de leurs poids moléculaires similaires et de leurs propriétés physiques et chimiques proches. De plus, leur solubilité dans l'eau est extrêmement faible, avec moins de $1 \mu\text{g}/\text{L}$ pour le DINP et $3 \mu\text{g}/\text{L}$ pour le DEHP [74, 78, 230].

III.4.2. Comparaison des taux de migration des phtalates *in vitro* aux valeurs guides

Selon le SCCTEE, la quantité maximale admissible qui migre à partir d'un jouet est de 0,3mg pour le DEHP et de 1,2mg pour le DINP par 10cm^2 de jouet mis en bouche sur une période de 3 heures, soit $1,67 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ pour le DEHP et $6,67 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ pour le DINP [47].

Sur l'ensemble des jouets non conforme par rapport au DEHP et qui ont subi le test de migration salivaire *in vitro* (n=44), 13 jouets ont donné un taux de migration supérieur à la valeur guide fixée à $1,67 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ (soit 29,54%).

CHAPITRE III. DISCUSSION

Sur l'ensemble des jouets non conforme par rapport au DINP et qui ont subi le test de migration salivaire *in vitro*, dans lesquels le DINP a migré (n=6), aucune jouet n'a donné un taux de migration supérieur à la valeur guide de migration fixées à $6,67\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$.

Dans l'étude de Bouma *et al.*, en 2002, l'épreuve de migration *in vitro* du DINP et du DEHP à partir de jouets en PVC, a révélé que la migration du DEHP se situait entre $0,31\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ et $5,22\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. Ces résultats sont similaires aux nôtres. La migration de DEHP de six échantillons a dépassé la valeur recommandée par le CSTEE. En ce qui concerne la migration du DINP, elle était comprise entre $0,25\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ et $4,85\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. Tous les jouets présentaient une migration de DINP inférieure à la valeur maximale admissible du CSTEE, ce qui est en accord avec nos résultats [27].

Des taux de migration plus bas ont été observés dans l'étude menée par ANSES en 2016, où un essai de migration a été réalisé sur 15 jouets en PVC vendus à Marseille, France. Les essais de migration, utilisant de la salive artificielle comme simulant, ont suivi le protocole de migration décrit par le JRC [232]. Le DEHP a migré dans le simulant de salive à partir de deux jouets, avec une migration se situant entre $0,23$ et $0,63\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. Quant au DINP, il a migré dans le simulant de salive à partir d'un seul jouet, avec un taux estimé à $0,1\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ [3].

D'après l'essai de migration *in vitro* dans un simulant de salive, réalisé par Al-Natsheh M *et al.*, en 2015, sur 17 jouets en PVC vendus en Jordanie, le DEHP a été détecté dans le simulant de salive provenant de 11 jouets. La migration se situait dans l'intervalle de $0,05\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ à $0,49\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. En ce qui concerne le DINP, il était en dessous de la limite de quantification dans les 3 jouets analysés. Ces valeurs sont significativement inférieures à nos résultats, et tous les résultats de la migration se sont révélés bien en deçà des limites autorisées selon le SCTEE [16].

Selon l'étude menée par Babich MA *et al.* (2020) aux États-Unis, l'essai de migration dans un simulant de salive à partir des jouets en PVC, en suivant la méthode du JRC, a révélé que le taux de migration du DINP a été estimé à une moyenne de $4,21\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, avec un maximum de $11,09\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, dépassant nos résultats (moyenne de $1,90 \pm 1,34\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ et un maximum de $4,25\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$). Aucune donnée de migration de DEHP n'a été mentionnée dans l'étude [24].

Dans l'étude menée par le même auteur, Babich *et al.* (2002-2004) aux États-Unis, l'essai de migration dans un simulant de salive a été réalisé sur 24 pièces en plastique souple contenant du DINP (sur un total de 36 pièces). Les taux de migration observés ont varié de 1,0

CHAPITRE III. DISCUSSION

à $11,1\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, avec une moyenne de $4,1 \pm 2,7\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ et une médiane de $3,4\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ [30, 31].

III.4.3. Corrélation entre le taux de phtalates dans les jouets et la migration *in vitro*

Une corrélation forte a été observée entre le taux de migration *in vitro* du DEHP et la teneur des jouets en DEHP (% p/p). D'après la corrélation de *Pearson* cette corrélation était statistiquement significative ($p < 0,05$).

Selon le coefficient de corrélation obtenu ($r < 0,7$), nous avons observé une corrélation moyenne entre le taux de migration de DINP *in vitro* et la teneur du jouet en DINP (p/p). Cependant, cette corrélation n'était pas statistiquement significative ($p > 0,05$). Il ne semble pas y avoir de corrélation directe entre la concentration de DINP dans les jouets en PVC et les taux de migration des phtalates.

Dans l'étude menée par Babich et *al.* (2020), des observations similaires ont été faites, montrant une corrélation faible entre la teneur en DINP des jouets et les taux de migration *in vitro* ($r=0,22$). Malgré une dépendance du taux de migration par rapport à la concentration, les chercheurs ont noté une variabilité significative des taux de migration, en particulier pour le DINP. Cette variabilité peut être attribuée à divers facteurs tels que des erreurs expérimentales, des méthodes de fabrication différentes, des épaisseurs d'échantillons variables, et la présence d'autres additifs tels que des charges, des colorants ou d'autres plastifiants [24]. Les résultats des plusieurs études internationales indiquent qu'il n'y a pas de corrélation entre la teneur des jouets en phtalates et la migration [230].

Dans l'étude de Bouma et *al.* (2002), les résultats montraient une grande dispersion des taux de migration. Le coefficient de corrélation dans cette étude a été estimé à 0,53 pour le DEHP et à 0,45 pour le DINP témoignant une corrélation moyenne entre la teneur en phtalates dans les jouets analysés et le taux de migration *in vitro* [27].

Dans notre étude, les taux de migration ont généralement augmenté avec l'augmentation de la concentration du plastifiant. Quel que soit le phtalate analysé dans notre étude, aucune migration *in vitro* n'a été observée pour des teneurs en phtalates faibles (minimum de DEHP 7,14% et 9,88% de DINP).

Des résultats similaires ont été trouvés dans l'étude de Bouma et *al.* (2002), à faible teneur en DINP et DEHP (<5% en poids), aucune migration détectable ne se produit de l'échantillon vers le simulant de salive. À des concentrations plus élevées (supérieure à 15% en poids), la migration du DINP et du DEHP de l'échantillon vers le simulant de salive était détectable [27]. Des recherches menées pour la Commission américaine de sécurité des produits

CHAPITRE III. DISCUSSION

de consommation (CPSC) n'ont pas trouvé de relation cohérente entre la concentration de phtalate dans le produit et le taux de migration [240].

Dans leur étude, Babich et *al.* (2002-2004) ont conclu que la migration ne présentait pas de corrélation avec la teneur en DINP. Les taux de migration ont donné une migration de 1,0 à 11,1 $\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, avec une moyenne de $4,1 \pm 2,7\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. Parallèlement, la teneur en DINP oscillait entre 12,9% et 39,4% en poids, avec une moyenne de 30% [30, 31].

Dans l'étude menée par Al-Natsheh et *al.* (2015) en Jordanie, aucune migration de DEHP n'a été observée dans les jouets présentant des faibles teneurs en DEHP, ce qui concorde avec nos résultats. Cependant, contrairement à nos résultats, la corrélation entre ces deux variables était faible ($r=0,22$). Pour le DINP, aucune migration n'a été observée pour les teneurs en DINP entre 2,30% et 3,19% [16].

Selon l'étude menée par l'ANSES en 2016, le DEHP a migré dans le simulant de salive à partir de deux jouets, avec une migration se situant entre 0,23 et 0,63 $\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. Quant au DINP, il a migré dans le simulant de salive à partir d'un seul jouet, avec un taux estimé à 0,1 $\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ [3].

Le tableau 117 illustre la comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature en ce qui concerne la corrélation entre le taux de phtalates et la migration *in vitro*.

Tableau 117. Comparaison de la corrélation entre le taux de phtalates et la migration *in vitro* de notre étude avec la littérature.

Etude, année, pays	DEHP		DINP	
	Teneur (% p/p)	Migration ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)	Teneur (% p/p)	Migration ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)
Notre étude, 2024, Algérie	7,05% - 36,20%	0,11 – 4,51	9,88% - 35,42%	0,42 - 4,25
Babich MA et al., 2020, États-Unis [24]	6,0%	<LQ	41,9%	4,21
ANSES, 2016, France [3]	0,18% - 14,7%	0,23 - 0,63	4%	0,1
Al-Natsheh M et al., 2015, Jordanie [16]	0,50% - 29,60%	0,05 - 0,49	2,30% - 3,19%	<LQ
Bouma et al., 2002, États-Unis [27]	3% - 44%	0,31 - 5,22	16% - 48%	0,25 - 4,85
Babich et al., 2002, États-Unis [30]	/	/	12,9% - 39,4%	1,0 - 11,1

Contrairement à notre étude, aucune recherche antérieure n'a mis en évidence de corrélation entre la concentration de DEHP et la migration *in vitro*. Cette disparité peut être attribuée

CHAPITRE III. DISCUSSION

aux différences entre les échantillons analysés et à l'homogénéité spécifique des jouets, dont 52,3% étaient des jouets de bain et 31,8% des poupées, d'où le DEHP a migré dans notre échantillon.

L'impossibilité de prédire les taux de migration à partir de la teneur en phtalates rend plus difficile l'élaboration d'une norme de performance pour les produits pour enfants. Si l'on pouvait prédire les taux de migration à partir de la teneur, les organismes de réglementation pourraient simplement limiter la teneur en phtalates afin de maintenir l'exposition en dessous de la DJA. En l'absence d'une relation prévisible entre le contenu et le taux de migration, il devient nécessaire de mesurer le taux de migration de chaque produit, ce qui est plus difficile à réaliser et plus coûteux [31].

D'après la littérature scientifique, aucune migration n'est envisageable pour des concentrations de phtalates faibles. Par conséquent, la limite réglementaire de 0,1% ne provoquerait pas de migration salivaire [16, 27].

La variabilité des résultats de migration des phtalates depuis les jouets en plastique vers le simulant de salive, telle qu'observée dans la littérature par rapport à notre étude, nécessite une explication approfondie. L'objectif de cette partie est d'identifier et de discuter les facteurs qui contribuent aux incertitudes des taux de migration publiés dans la littérature disponible, et de discuter des raisons pour lesquelles il ne semble pas y avoir de corrélation entre les taux de migration et la concentration de phtalates dans les jouets en PVC souple, comme le prévoirait la loi de *Fick* pour la diffusion [230].

Le taux de migration des phtalates dans le PVC souple semble dépendre d'un certain nombre de paramètres chimiques et physiques du phtalate tels que la taille, le poids moléculaire, les liaisons chimiques, la solubilité du phtalate donné et la concentration initiale dans le polymère plastique [230]. En plus, le taux de migration dépend à la fois des propriétés du plastique et des propriétés du produit spécifique ainsi que des propriétés du phtalate spécifique [230].

La libération de plastifiant dépend donc d'autres facteurs tels que la rugosité de la surface, le type d'enduit, l'épaisseur du revêtement [27].

La solubilité des phtalates dans l'eau, en particulier celle de DEHP et de DINP, est très faible, la tendance à migrer vers un simulant à base d'eau comme la salive artificielle sera donc faible. Cela signifie que les taux de migration des phtalates en question seront faibles, voir indétectables, dans les expériences statiques *in vitro* si la migration est uniquement basée sur la solubilité dans l'eau des phtalates [230].

CHAPITRE III. DISCUSSION

La concentration initiale de la substance chimique dans le plastique, l'épaisseur de la pièce en plastique, la cristallinité du plastique et la structure de la surface de l'article en plastique influencent la vitesse de migration de manière assez complexe [230].

Certaines méthodes de migration de phtalates pour les matériaux en contact avec les aliments et pour les produits pharmaceutiques sont normalisées, ce qui rend la comparaison des résultats beaucoup plus transparente [230]. Des tentatives ont également été faites pour normaliser les expériences de détermination des taux de migration des produits de consommation vers la salive et la sueur artificielles, mais le succès est limité et la corrélation entre la quantité de phtalates dans les produits, les taux de migration et l'exposition *in vivo* sur des adultes simulant des enfants en train de sucer et de mâcher des produits en PVC souple n'est pas évidente [230].

La composition de jouet peut influencer de manière significative les taux de migration des phtalates. Dans presque toutes les études, la formule exacte du PVC souple n'est pas connue. Les paramètres ne sont connus que dans les cas où des matériaux de référence en PVC souple ont été fabriqués [230]. Par exemple en utilisant des plastifiants à des concentrations différentes, des structures chimiques et des mélanges différents, une teneur élevée en matière de charge et un taux d'humidité élevé. En raison de l'utilisation d'huiles de dilution, il n'existe pas de taux de migration fixe pour les phtalates dans le PVC souple. Si le matériau est moussé, le nombre de structures cellulaires fermées et ouvertes influencera la migration car les cellules contiendront de l'air ou des gaz de soufflage. En outre, la distribution du poids moléculaire de la matière première PVC et la quantité de cristallites peuvent influencer les taux de migration, car la migration dépend du volume libre entre les chaînes polymères du PVC.

L'influence de la charge dépend de la quantité et de la taille des particules. Les charges nanoparticulaires peuvent réduire les taux de migration des plastifiants.

Dans la plupart des cas, les échantillons destinés à la détermination de la teneur en phtalates et à la mesure de la migration ont été achetés dans des magasins de jouets. Cependant, l'histoire des échantillons n'est pas connue en ce qui concerne la fabrication et le transport vers les magasins (Température et humidité pendant le stockage, conditions d'emballage) et le stockage avant que les clients achètent le produit. Tous ces facteurs peuvent affecter la migration des phtalates de manière imprévisible.

La préparation de l'échantillon avant l'analyse peut avoir une influence majeure sur les résultats de l'étape de migration. Dans certaines études, l'échantillon est lavé/plongé dans du simulant frais avant l'analyse. Le rinçage de la surface avec un détergent dans l'eau et le rinçage avec de l'eau déminéralisée permettra d'éliminer le phtalate déjà migré de la surface du produit

CHAPITRE III. DISCUSSION

en PVC souple avant le test de migration, ce qui éliminera les problèmes de préhistoire inconnue mentionnés ci-dessus.

Le découpage des produits en PVC pour le test de migration peut donner lieu à de nouvelles surfaces dont la structure de surface diffère de celle du produit fini.

Au cours de tests de migration, plusieurs autres facteurs peuvent influencer sur la migration de phtalates à partir de jouets en PVC, entre autre la contamination des réactifs, des solvants, de la verrerie, *etc.* Cela ne pose pas de problème pour l'analyse quantitative, étant donné que les concentrations utilisées à des fins de plastification sont bien plus élevées que les niveaux de contamination du matériel de laboratoire [5, 32]. Cela peut cependant poser un problème lors de la mesure de la migration, car la concentration de phtalates dans le liquide de migration est plutôt faible.

Dans les différentes études sur la migration de phtalates, lorsque l'échantillon a été exposé à de la salive artificielle, soit de manière statique, soit de manière dynamique à la température d'essai et au rapport surface/volume choisi, le simulant de contact est extrait par un solvant organique.

Des exemples sont le n-hexane ou le dichlorométhane à l'aide d'une ampoule à décanter en veillant à ce que les phtalates adsorbés sur la verrerie utilisée dans l'essai soient également transférés. La quantité de phtalates à analyser est très faible et la solubilité dans l'eau est très basse. L'étape d'extraction peut donc être critique, car une contamination externe par des phtalates provenant d'autres sources est possible, et les phtalates peuvent adhérer à la surface de la verrerie [230].

La méthode d'agitation au moment de la migration peut influencer significativement le taux de migration *in vitro*. Il faut s'attendre à ce que les essais de migration statiques donnent des taux de migration plus faibles. Outre le principe de l'essai dynamique, la vitesse d'agitation et de brassage influencera le taux de migration de manière complexe.

Selon la littérature scientifique, les conditions statiques ont entraîné la plus faible libération de phtalates (environ $0,03\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$). Le secouage n'a pas augmenté de manière significative la migration des phtalates. Lorsque l'extraction par ultrasons, la migration des phtalates a augmenté d'environ 10 fois [27].

Les principes suivants ont été identifiés pour les méthodes dynamiques : Head over Heels (HOH) ou tête en bas, agitation horizontale, agitation verticale, agitation magnétique, ultrason et le mâchonnement et la succion *in vivo*.

Ces méthodes permettant de déterminer la migration des phtalates sont donc divisées en trois catégories : conditions douces, moyennes et sévères.

CHAPITRE III. DISCUSSION

Dans certaines études de migration, des essais statiques et dynamiques ont été réalisés. En général, les essais au Danemark, en Turquie, en Autriche et aux États-Unis sont des essais statiques ou dynamiques douces. Dans ces études, les essais dynamiques sont très légers et utilisent une légère agitation ou un brassage magnétique. Les essais statiques et dynamiques ont été réalisés à 37 °C. Les conditions douces entraînent généralement des taux de migration plus faibles que les taux de migration *in vivo* chez l'adulte pour la simulation de la succion et du mâchonnement des enfants sur des produits en PVC souple. Les taux de migration obtenus sont assez faibles par rapport aux essais réalisés aux Pays-Bas et au Japon. Les Pays-Bas utilisent la méthode dynamique « Head over Heels » à 37°C et à 60 tours/minute, qui donne des taux de migration plus élevés, mais les taux de migration sont toujours inférieurs aux tests *in vivo* chez les adultes. En revanche, le Japon utilise des tests dynamiques très sévères, il utilise l'agitation horizontale à 300 tours/minute, pour tenter d'obtenir des résultats conformes aux résultats obtenus lors des tests *in vivo* chez des adultes volontaires pour simuler la mise en bouche et le mâchonnement de produits en PVC souple par des enfants [230]. La méthode rigoureuse utilisée par les études japonaises semble loin de la réalité et elle est jugée donner des taux de migration trop élevés [230].

La méthode HOH est la méthode préférée pour les études de migration des jouets dans l'UE, et de nombreuses études ont été réalisées pour la normaliser. La méthode est décrite par Simoneau et al, 2001 [232] et elle a été développée dans le but d'être utilisée pour la détermination de la migration à partir des jouets. Cette méthode est considérée comme la méthode la plus documentée de toutes, principalement pour les taux de migration de DINP vers la salive artificielle, mais aussi quelques-uns pour le DEHP. La méthode HOH semble donner les taux de migration les plus réalistes, puisque le produit donné est tourné une fois par seconde, ce qui ressemble à la façon dont un enfant mâche un jouet. C'est une méthode dite moyenne. Les autres méthodes utilisent des conditions expérimentales très diverses et elles sont très différentes dans leur approche, ce qui rend la comparaison difficile [230]. Pour cette raison, la méthode HOH est recommandée comme méthode de référence pour la détermination des taux de migration des phtalates, tout en sachant qu'il est difficile d'obtenir des taux de migration réalistes dans des études *in vitro* ou *in vivo* chez l'adulte [230].

Lorsque les taux de migration sont utilisés à des fins d'évaluation des risques, un taux de migration élevé se traduira par une évaluation des risques plus prudente [230].

Selon la littérature scientifique, dans des conditions de migration similaires à notre étude (agitation moyenne), les taux de migration de DEHP varient entre 0,007 et 5,22 $\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, tandis que ceux de DINP se situent entre 0,25 et 4,85 $\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. Les moyennes de migration

CHAPITRE III. DISCUSSION

sont de $1,78\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ pour le DEHP et de $2,22\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ pour le DINP [230]. Ce qui est légèrement supérieurs à nos résultats. Le taux de migration moyen de DEHP dans notre étude était de $1,54 \pm 0,92\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, le maximum était de $4,51\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ et le minimum était de $0,11\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. Le taux moyen de migration du DINP s'est établi à $1,90 \pm 1,34\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, avec une valeur maximale de $4,25\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ et une valeur minimale de $0,42\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$.

Conformément aux recommandations de l'agence de protection de l'environnement au Danemark (EPA) de 2016 pour l'évaluation de l'exposition, les taux de migration suggérés sont de $1,67\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ pour le DEHP et de $2,17\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ pour le DINP. Ces valeurs se rapprochent considérablement de nos résultats, où nous avons mesuré des taux de migration de $1,54\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ pour le DEHP et de $1,90\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ pour le DINP. Cette concordance renforce la cohérence de nos données avec les normes et les recommandations établies pour l'évaluation de l'exposition aux phtalates dans les jouets en PVC [230].

III.5. ESSAI DE MIGRATION SALIVAIRE *IN VIVO*

Pour évaluer la migration de phtalates dans la salive ; il est admis qu'il est impossible de mener des études sur des enfants pour des raisons pratiques et éthiques. Il est donc convenu de recourir à des adultes volontaires comme substituts [42]. D'après le RIVM, il est acceptable d'utiliser les taux de migration salivaire *in vivo* mesurés sur des volontaires comme meilleure estimation des taux de migration salivaire chez les enfants [41]. Les taux de migration salivaire *in vivo* mesurés dans des études antérieures varient de $0,5$ à $10\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ [33, 42-45].

Généralement, les études *in vivo* sont réalisées en parallèle avec des études *in vitro*, permettant ainsi une comparaison des taux de migration [33, 42, 44-46].

Un total de 65 adultes volontaires a pris part à l'essai de migration salivaire *in vivo*, comprenant 34 femmes et 31 hommes. Il est important de souligner qu'un même sujet volontaire pouvait participer au test à plusieurs reprises.

Le test de migration *in vivo* réalisé dans notre travail a suivi l'étude rapportée par le groupe de consensus néerlandais (RIVM, 1998 [42]) décrit dans les travaux de Niinou T et *al.* (2001) [45], et Niinou T et *al.* (2003) [44].

Le test de migration salivaire *in vivo* a été soumis à une validation par le conseil scientifique de la faculté de médecine de l'université Ferhat Abbes 1 de Sétif.

Les adultes volontaires ont exprimé leur consentement libre et éclairé pour participer à toutes les procédures associées à l'étude, conformément aux directives éthiques régissant les protocoles de recherche impliquant des sujets humains [236].

CHAPITRE III. DISCUSSION

III.5.1. Taux de migration salivaire des phtalates *in vivo*

Le test de migration *in vivo* a été effectué sur 55% des jouets en PVC analysés (n=149) et sur 73,21% des jouets en PVC non conformes (n=112).

Le DEHP a été détecté *in vivo* dans 24 jouets parmi les 70 jouets contenant un taux de DEHP dépassant la norme (soit 34,28%).

Le taux moyen de migration *in vivo* de DEHP était de $0,68 \pm 0,33 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. Le maximum était de $1,36 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, tandis que le minimum était de $0,12 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. A noter que la moyenne de DEHP a été estimée à 17,67% dans des jouets.

Le taux de migration de DEHP le plus élevé, estimé à $1,36 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, a été révélé dans une poupée (A₃₃).

Corea-Téllez KS et *al.*, en 2008, a réalisé un essai de migration salivaire pour estimer les doses journalières de DEHP reçues par les enfants et les nourrissons mexicains utilisant des jouets en plastique souple. Dans cette étude, une série de PVC plastifiés a été préparée en mélangeant de PVC et de DEHP afin d'obtenir des matériaux à teneur en DEHP homogène et contrôlée. Les PVC plastifiés ont été préparés avec une forte teneur en DEHP (60% en poids).

La moyenne de migration de DEHP dans la salive artificielle était de $1,01 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, cette valeur est supérieure à notre résultat ($0,68 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$) [33].

Selon l'étude menée par Niinou T et *al.*, en 2001, et qui a porté sur 4 volontaires adultes et des jouets en PVC avec une teneur en DEHP de 18,5%, le taux de migration moyen était de $0,74 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ [45].

Dans notre échantillon, des jouets contenant une teneur proche en DEHP (17,66%, 17,77% et 17,69%) ont révélé un taux de migration différents ($0,47 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, $0,33 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, et $0,61 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ respectivement). Nous avons noté une hétérogénéité importante dans les résultats.

Selon l'étude menée par le même auteur en 2003, et qui a porté sur 4 volontaires adultes et des plaques en PVC avec une teneur en DEHP de 47,7%, le taux de migration moyen était de $19,67 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ [44]. Dans notre travail, un jouet de bain (O₂₉) contenant une teneur proche en DEHP (36,20%), a révélé une migration beaucoup plus faible estimée à $1,22 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$.

Le DINP a été détecté et quantifié dans 4 jouets parmi les 34 jouets contenant un taux de DINP dépassant la norme et ayant subi un test de migration *in vivo*, soit 11,76%. Il est important de noter que le DINP a migré vers la salive naturelle des adultes volontaires exclusivement à partir des jouets de bain.

CHAPITRE III. DISCUSSION

Le taux moyen de migration *in vivo* de DINP était de $0,97 \pm 0,40 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. Le taux de migration maximum observé était de $1,42 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, tandis que le taux minimum était de $0,44 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. A noter que la teneur moyenne de DINP dans ces échantillons était à 35,17%.

D'après la littérature scientifique, les taux de migration salivaire de DINP *in vivo* mesurés dans les études sur des sujets humains variaient de 0,5 à $10 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ [43].

Des valeurs de migration plus élevées ont été relevées dans l'étude de Chen, SB et *al.*, portant sur l'essai de migration du DINP à partir de produits en PVC pour enfants aux États-Unis. L'expérimentation a été menée sur 10 adultes volontaires mâchant un matériau en PVC d'environ $10,3\text{cm}^2$ de surface, avec une concentration de DINP de 43%. La mastication s'est déroulée en quatre sessions de 15 minutes, aboutissant à des concentrations de DINP allant de 1,02 à $9,65 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. Le taux moyen de migration a été établi à $4,34 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ [244].

D'après l'étude de Niinou T et *al.* (2001) [45], réalisée sur 4 volontaires adultes, à partir des jouets en PVC avec une teneur de DINP à partir d'un jouet en PVC contenant 25,6% DINP a été estimée à $1,3 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. D'après l'étude de même auteur réalisée en 2003 [44], sur 4 volontaires adultes, à partir des plaques en PVC contenant 46,2% DINP, le taux moyen de migration de DINP a été estimée à $20,8 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$.

Selon l'étude du RIVM en 1998, qui a effectué des tests *in vivo* sur des jouets en PVC avec 38% de DINP sur 20 volontaires adultes, la migration moyenne était de $1,4 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. La migration minimale était de $0,3 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, et la migration maximale atteignait $8,3 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. Dans le même essai, des jouets contenant 43% de DINP ont montré une migration de $2,44 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ [0,9-8,9]. Une migration de $1,63 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ [0,9-5,7] a également été observée à partir de jouets avec la même teneur en DINP (43%), réalisée sur 10 volontaires adultes [42].

Une discordance a été observée entre nos résultats et les études ultérieures, expliquée essentiellement par la différence de la teneur en phtalates et le manque de reproductibilité des tests de migration chez les adultes volontaires. Nous avons constaté une lacune dans les données récentes concernant la migration *in vivo* des phtalates. Cela est attribuable à la restriction de leur utilisation dans les jouets pour enfants, limitant les taux à 0,1% dans les pays encourageant la recherche scientifique. La rareté d'études menées *in vivo* souligne l'originalité de ce modeste travail.

D'après la littérature scientifique, les taux de migration *in vivo* varient considérablement, avec une faible reproductibilité des résultats [44].

CHAPITRE III. DISCUSSION

III.5.2. Comparaison des taux de migration des phtalates *in vivo* aux valeurs guides

Aucun des 24 jouets testés pour leur teneur en DEHP et soumis à un test de migration salivaire *in vivo* n'a dépassé la limite de $1,67\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ fixée comme valeur guide. De même, parmi les 4 jouets testés pour leur teneur en DINP et soumis au même test, aucun n'a surpassé la limite de migration de $6,67\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ établie par le SCTEE.

III.5.3. Corrélation entre le taux de phtalates dans les jouets et la migration *in vivo*

Dans les 24 jouets qui ont révélé une migration de DEHP *in vivo*, le taux moyen de migration DEHP *in vivo* a été estimé à $0,68 \pm 0,33\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, et le taux de DEHP a été estimé à $17,67\% \pm 9,39\%$. Nous avons constaté une faible corrélation entre le taux de migration de DEHP *in vivo* et la teneur en DEHP ($r < 0,4$). Cette corrélation était statistiquement non significative ($p > 0,05$).

Comme dans le test de migration salivaire *in vitro*, la migration *in vivo* n'a été observée que pour les teneurs élevées en phtalates (6,44% en DEHP). À l'exception d'un seul échantillon (C₈, un ballon), où nous avons observé un faible taux de DEHP de 1,74%, entraînant une migration *in vivo* de $0,42\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. Cela pourrait éventuellement être expliqué par une contamination lors de l'analyse qui est largement documentée dans la littérature scientifique [21, 206, 207, 211].

Dans les 4 jouets qui ont révélé une migration *in vivo* de DINP, le taux moyen de migration a été estimé à $0,97 \pm 0,40\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, et le taux de DINP a été estimé à $35,17\% \pm 0,17\%$.

Dans ces quatre jouets et pour des taux de DINP proches (35,09%, 35,11%, 35,42% et 35,06%), nous avons observé des taux de migration *in vivo* différents qui variaient de 0,44 à $1,42\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. La migration de DINP n'a été observée qu'avec les jouets avec un taux élevés en DINP. La corrélation entre la teneur de jouet en DINP et la migration vers la salive des adultes volontaires était statistiquement non significative ($p < 0,05$).

D'après la littérature scientifique, les taux de migration *in vivo* varient considérablement, avec une faible reproductibilité des résultats [44].

Le tableau 118 résume les différentes études *in vivo* rapportées dans la littérature.

CHAPITRE III. DISCUSSION

Tableau 118. Comparaison des taux de migration *in vivo* de notre étude avec la littérature.

Article	Teneur (% p/p)	N ^a	Moyenne ($\mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$)	Référence
Jouets en PVC	17,67% DEHP	65	0,68	Notre étude, 2024
	35,17% DINP		0,97	
	18,5% DEHP	4	0,74	Niinou T et al., 2001[45]
	25,6% DINP		1,3	
Plaques en PVC	47,7% DEHP	4	19,67	Niinou T et al., 2003 [44]
	46,2% DINP		20,8	
	60% DEHP	3	1,01	Corea-Téllez KS et al., 2008 [33]
Jouets en PVC	38% DINP	20	1,4 [0,3-8,3]	RIVM 1998 [42]
	43% DINP	10	2,44 [0,9-8,9]	
	43% DINP	10	1,63 [0,9-5,7]	

^a Nombre de sujets

Ces résultats suggèrent une variabilité significative des taux de migration *in vivo* entre différentes études, soulignant l'importance de considérer les divers facteurs influençant ces résultats. D'après la littérature scientifique, il n'est pas possible, sur une base scientifique, de comparer les conditions de mastication des adultes avec celles des enfants, car la cavité buccale de la bouche d'un enfant n'est pas complètement développée. Par conséquent, la force de mastication des enfants devrait être plus faible que celle des adultes. En outre, la stimulation de la production de salive par la mastication peut être différente chez les enfants et les adultes [230]. Il convient de mentionner que la salive peut contenir des émulsions grasses provenant de l'ingestion d'aliments, par exemple du lait et des graisses végétales, et la migration peut augmenter de plusieurs ordres de 5 à 1000 fois [230].

L'ECHA estime que le manque de standardisation des méthodes *in vivo* et la grande variabilité des mesures sont problématiques. Elle conclut que les données *in vivo* pourraient ne pas donner une bonne représentation de la migration des phtalates à partir des jouets [230].

III.5.4. Comparaison entre la migration salivaire des phtalates *in vivo* et *in vitro*

22 jouets en PVC ont subi un test de migration *in vivo* et *in vitro* parmi les 112 jouets non conformes (soit 19,64%). Afin d'étudier la corrélation entre le taux de migration de DEHP *in vitro* et *in vivo*, nous avons appliqué la corrélation non paramétrique de Spearman. Nous avons constaté une corrélation moyenne entre le taux de migration DEHP *in vitro* et *in vivo*. Cette corrélation était statistiquement non significative ($p > 0,05$). Le taux de migration du DEHP *in vivo* a été estimé à $0,68 \pm 0,34 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ et à $1,88 \pm 1,07 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ *in vitro*.

CHAPITRE III. DISCUSSION

Le test statistique non paramétrique de *Wilcoxon* pour série appariée a révélé une différence statistiquement significative entre la moyenne de migration de DEHP *in vivo* et la moyenne de migration *in vitro* ($p < 0,05$).

4 jouets parmi les 44 jouets non conformes par rapport au taux de DINP (soit 9,10%) ont subi le test de migration *in vivo* et *in vitro* et ont révélé des taux de migration détectables et quantifiables. La corrélation entre le taux de migration de DINP *in vitro* et *in vivo* a montré une faible corrélation, statistiquement non significative ($p > 0,05$). Le taux de migration de DINP *in vivo* a été estimé à $0,97 \pm 0,40 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ et à $2,49 \pm 1,24 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ *in vitro*.

Le test statistique non paramétrique de *Wilcoxon* pour série appariée a révélé qu'il n'y a pas une différence statistiquement significative entre la moyenne de migration de DINP *in vivo* et la moyenne de migration *in vitro* ($p > 0,05$).

D'après la littérature scientifique, la corrélation entre les taux de migration *in vivo* et *in vitro* n'est pas évidente [230].

Dans la plupart des cas où aucune migration *in vitro* n'a été observée, l'absence de migration *in vivo* a également été constatée. Cela concorde avec l'étude de Niinou et *al.* (2001) [45].

En générale, la migration des phtalates analysés *in vitro* était d'environ sept fois supérieure à la migration *in vivo*. Cependant, cette tendance était inversée pour trois échantillons spécifiques (B₁₇/AL₂₄/C₈), où la migration *in vivo* était plus élevée que la migration *in vitro*. La littérature scientifique a également rapporté des conclusions similaires. Niinou et *al.* (2001) ont constaté une moyenne de migration de DEHP de $5,25 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ *in vitro*, comparée à $0,74 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ *in vivo*. De même, la moyenne de migration de DINP était de $8,92 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ *in vitro*, tandis qu'elle était de $1,3 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ *in vivo* [45].

De manière similaire, l'étude de Niinou et *al.* (2003) a mis en évidence des taux de migration *in vitro* plus élevés que ceux observés *in vivo*, avec des valeurs de $20,8 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ et $5,4 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ respectivement [44]. Dans le cas de l'étude de RIVM 1998, réalisée sur des disques en PVC contenant le DINP à des concentrations de 38% et 43%, une migration *in vitro* plus importante que la migration *in vivo* a été mise en évidence [42].

En revanche, l'étude de Corea-Télez KS et *al.* (2008), a révélé un taux de migration de DEHP *in vivo* supérieur à celui enregistré *in vitro*, avec des valeurs de $1,01 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ et $0,68 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ respectivement [33].

Le tableau 119 compare les taux de migration (*in vivo* et *in vitro*), avec des études ultérieures.

CHAPITRE III. DISCUSSION

Tableau 119. Comparaison des taux de migration salivaire des phtalates dans un simulant de salive et dans la salive des adultes volontaires.

Phtalates	Migration <i>in vivo</i>	Migration <i>in vitro</i>	Références
17,67% DEHP	0,68µg/10cm ² /min	1,54µg/10cm ² /min	Notre étude, 2024
35,17% DINP	0,97µg/10cm ² /min	1,90µg/10cm ² /min	
60% DEHP	1,01µg/10cm ² /min	0,68µg/10cm ² /min	Corea-Téllez KS et <i>al.</i> , 2008 [33]
46,2% DINP	5,4 µg/10cm ² /min	20,8µg/10cm ² /min	Niinou T et <i>al.</i> , 2003 [44]
18,5% DEHP	0,74µg/10cm ² /min	5,25µg/10cm ² /min	Niinou T et <i>al.</i> , 2001[45]
25,6% DINP	1,3 µg/10cm ² /min	8,92µg/10cm ² /min	
38% DINP	1,4 µg/10cm ² /min	3µg/10cm ² /min	RIVM 1998 [42]
43% DINP	1,6 µg/10cm ² /min		

Il ressort de l'étude bibliographique qu'il n'existe pas de taux de migration réels spécifiques, scientifiquement fondés pour chacun des deux phtalates DEHP et DINP et qu'il n'existe pas de taux de migration réels basés sur des études de migration *in vivo*. Beaucoup de facteurs affectent les taux de migration, notamment en ce qui concerne le dispositif expérimental, tant pour la détermination des taux de migration *in vitro* que pour celle des taux de migration *in vivo*.

III.6. EVALUATION DES EXPOSITIONS ET CARACTERISATION DU RISQUE

Dans notre étude, nous avons combiné les taux de migration salivaire *in vitro* obtenus dans notre pratique avec les données des durées d'exposition, à la surface de contact avec le jouet afin d'estimer l'exposition des enfants de moins de 36 mois aux DEHP et au DINP lors de la mise en bouche de jouets en PVC. Nous avons ensuite comparé les expositions estimées dues à la mise en bouche avec les données disponibles sur l'exposition des enfants aux phtalates *via* les articles en PVC et la dose journalière admissible (DJA).

La DJE a été calculée pour la moyenne, la valeur minimale et maximale de migration *in vitro*. Le taux de migration maximal correspond au scénario le plus défavorable, cela permet d'obtenir un facteur de sécurité plus élevé dans les calculs d'exposition pour la santé [230].

La DJE au DEHP et au DINP a été calculée pour trois classes d'âge distinctes : 1 à 12 mois, 12 à 24 mois et 24 à 36 mois.

Pour le DEHP, la DJE moyenne dans la classe d'âge (1-12 mois) a été estimée à $11,50 \pm 6,84 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$, une valeur maximale de $33,67 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ et une valeur minimale de $0,82 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$.

La DJE moyenne dans la classe d'âge (12-24 mois) a été estimée à $2,37 \pm 1,41 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$, une valeur maximale de $6,95 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ et une valeur minimale de $0,17 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$.

En ce qui concerne la tranche d'âge de 24 à 36 mois, la DJE moyenne a été évaluée à $2,00 \pm 1,19 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$, une valeur maximale de $5,84 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ et une valeur minimale de $0,14 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$.

CHAPITRE III. DISCUSSION

Pour le DINP, la DJE moyenne dans la classe d'âge (1-12 mois) a été estimée à $14,19 \pm 9,99 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$, une valeur maximale de $31,73 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ et une valeur minimale de $3,14 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$.

La DJE moyenne dans la classe d'âge (12-24 mois) a été évaluée à $2,93 \pm 2,06 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$, une valeur maximale de $6,55 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ et une valeur minimale de $0,65 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$. La DJE moyenne dans la classe d'âge (24-36 mois) a été estimée à $2,46 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$, avec un écart-type de $1,74 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$, une valeur maximale de $5,51 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ et une valeur minimale de $0,54 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$.

Nous avons observé une différence statistiquement significative entre les moyennes de DJE entre les trois groupes d'âge ($p < 0,05$). La DJE aux deux phtalates analysés était plus élevée dans le premier groupe (1-12 mois). Entre les enfants âgés de 12 à 24 mois et ceux de 24 à 36 mois, les résultats indiquent des expositions généralement similaires, mais plus faibles par rapport aux enfants de 1 à 12 mois. Cette observation s'explique par les différences de temps de mise en bouche, qui sont généralement plus élevés dans la catégorie d'âge de 1 à 12 mois. Ce constat rejoint également les conclusions de l'ANSES [3]. La période comprise entre 3 et 12 mois apparaît comme la période lors de laquelle le comportement de mise en bouche est le plus développé. Ce comportement semble s'accroître entre 6 mois et 12 mois en lien avec l'apparition de la préhension « volontaire ». La période entre 12 mois et 24 mois est, quant à elle, considérée comme une période transitoire au cours de laquelle le comportement de mise en bouche est observé, puis diminue significativement à partir de l'âge de 24 mois [3].

Selon la littérature scientifique, lorsque des données sur la migration sont disponibles, les algorithmes permettant d'estimer l'exposition suite à la mise en bouche des jouets sont relativement cohérents. Si les données de migration sont jugées de qualité et représentatives de la substance examinée, le paramètre qui présente le plus de variabilité et d'incertitude est la durée de l'exposition [4].

Compte tenu de la migration des phtalates type DEHP et DINP *in vitro*, l'exposition orale à ces substances chez les enfants de moins de 36 mois était significativement inférieure à la dose journalière tolérable de $50 \text{mg}/\text{kg}$ et $150 \text{mg}/\text{kg}$ par jour respectivement recommandée par EFSA [32, 71, 86, 203-205]. Afin d'assurer une sécurité pour la santé publique, l'EFSA a établi des TDI de DEHP basées sur les résultats anti-androgéniques dans des modèles expérimentaux, qui visent à donner les niveaux d'exposition aux phtalates considérés comme sans risques pour l'homme pendant toute une vie [245].

Généralement, l'estimation de l'exposition journalière d'une population à un composé chimique fait référence à l'apport journalier (AJ), qui prend en considération toutes les voies d'exposition et toutes les sources possibles. Donc, il constitue une valeur globale résultant des expositions par voie orale, dermique ou par inhalation. Cette valeur est le plus souvent

CHAPITRE III. DISCUSSION

déterminée par une méthode de biomonitoring (biosurveillance) concernant une cohorte de la population sur la base de prélèvements urinaires pour une période donnée. Pour le DEHP et le DINP, les études de biomonitoring couvrent généralement toutes les voies d'expositions permettant une détermination de l'exposition journalière sur la base des métabolites urinaires [21, 25, 246]. Sur la base des mesures des métabolites de phtalates dans l'urine et des toxicocinétique des phtalates chez l'homme, il est possible d'estimer les doses journalières des substances mères non métabolisées chez l'homme [36].

Selon la littérature scientifique, l'estimation de l'exposition journalière au DEHP était de 2,7µg/kg/j et au 1,6µg/kg/j pour le DINP exprimée en AJ en prenant en considération toutes les voies d'exposition et toutes les sources [246].

Dans d'autres références, l'exposition humaine au DEHP provenant de différentes sources environnementales ou alimentaires a été estimée à 5,8-19µg/kg/j [203, 204]. L'exposition des enfants âgés de 12 à 23 mois au DINP provenant de différentes sources environnementales ou alimentaires a été estimée à 21,98µg/kg/j [203].

Dans notre travail, le calcul de la DJE n'a pris en considération qu'une seule voie d'exposition (la voie orale) et une seule source d'exposition (les jouets en PVC). La contribution de l'ingestion quotidienne de phtalates provenant d'autres sources doit être prise en compte. Il est important d'évaluer le risque total d'exposition aux phtalates provenant de plusieurs autres sources [20]. Chez les enfants, une certaine exposition cutanée par les jouets en plastique souple est probable, d'où l'importance d'évaluer l'exposition *via* les différentes voies [31].

Selon les lignes directrices REACH (ECHA, 2012), l'exposition provenant des différentes voies d'exposition est additionnée afin de déterminer l'exposition totale [20, 243]. L'exposition humaine aux phtalates peut venir des différentes sources telles que : l'air, la poussière, l'eau, ou l'alimentation [203], l'environnement maternel *in utero* [247], et l'allaitement [31, 248]. L'exposition générale au DEHP et au DINP est importante en raison de leur utilisation dans plusieurs produits de consommation courante et leurs capacités à migrer de la matrice du PVC en contact avec l'air, aliments, *etc.* [82].

Parmi les voies d'exposition potentielles décrites dans la littérature, les aliments et les boissons constituent la source la plus importante d'exposition humaine aux phtalates [20, 21].

L'exposition non alimentaire est une autre source, les substances pouvant être émises dans l'air à partir de matériaux et facilement réparties dans l'environnement intérieur et extérieur [21].

Le contact cutané direct avec des matériaux contenant des phtalates et l'inhalation ou l'ingestion de poussière domestique sont également des voies d'exposition importantes [32].

CHAPITRE III. DISCUSSION

L'exposition alimentaire aux phtalates n'a pas été prise en compte dans l'évaluation actuelle. Toutefois, il convient de reconnaître que l'exposition des nourrissons et des enfants en bas âge aux phtalates par contact avec des jouets n'est probablement pas la principale voie d'exposition aux phtalates. La principale voie d'exposition pour la plupart des phtalates chez les enfants en bas âge, est l'alimentation [32]. En outre, il convient de noter que l'exposition par les scénarios et les voies proposés (la mise en bouche des jouets) pour ces évaluations ne durera pas toute la vie. Cependant, elle se produit à une période de développement critique [32].

Ashworth MJ et *al.* (2018) ont déterminé la DJE pour les phtalates toxiques pour le développement et la reproduction, tels que le DEHP, suite à une exposition orale *via* des jouets en plastique. En utilisant des équations mathématiques et en adoptant certaines variables pour le calcul de la DJE, ils ont trouvé une DJE maximale de 35,4µg/kg/j et une DJE moyenne de 5,6µg/kg/j [32]. Ces valeurs sont proches aux résultats obtenus dans la classe d'âge de 1 à 12 mois, où la DJE moyenne a été estimée à $11,50 \pm 6,84$ µg/kg/j, et une valeur maximale de 33,67µg/kg/j.

Ashworth MJ et *al.* (2018) ont également déterminé la DJE pour les phtalates hépatotoxiques de type DINP, suite à une exposition orale *via* des jouets en plastique. Ils ont trouvé une DJE maximale de 21,1µg/kg/j et une DJE moyenne de 4,1µg/kg/j [32], inférieures aux DJE estimées dans notre étude.

Le groupe de consensus néerlandais (RIVM, 1998) a réalisé une évaluation des risques pour les enfants suite à une exposition au DINP à partir des jouets en PVC de l'UE. Il a utilisé des données sur la migration de DINP provenant d'une étude sur des sujets humains. La DJE moyenne était à 9,66µg/kg/j et elle était la plus élevée dans le groupe d'âge de 6 à 12 mois [42]. Ce résultat concorde avec nos propres constatations dans la tranche d'âge moins de 12 mois. Avec l'âge de l'enfant, le poids augmente et la durée de mise en bouche diminue, ce qu'explique que l'exposition est plus élevée chez les enfants âgés entre 3 et 12 mois et elle est plus faible pour les enfants de 36 mois (5 à 10 fois) [42].

Selon l'étude de Babich et *al.*, en 2004 [31], l'exposition a été estimée pour trois groupes d'âge ; 3-11 mois, 12-23 mois et 24-36 mois. La DJE estimée au DINP *via* les jouets en plastique souple suite à la mise en bouche était légèrement plus importante chez les enfants âgés de 12 à 23 mois, où l'exposition moyenne estimée était de 0,08 (0,04-0,14) µg/kg/j. Pour les enfants de 3 à 11 mois, l'exposition moyenne estimée était de 0,07 (0,03-0,13) µg/kg/j. Pour les enfants de 24 à 36 mois, l'exposition moyenne estimée était de 0,03 (0,01-0,06) µg/kg/j [31]. Dans cette étude le temps de mise en bouche des jouets en plastique était plus prolongé dans la deuxième classe d'âge (0,18min/h) par rapport à la première classe où le temps était de 0,13min/h [31].

CHAPITRE III. DISCUSSION

Dans cette étude, les expositions orales moyennes estimées pour tous les groupes d'âge étaient inférieures à la valeur de la DJA [31]. Cette observation concorde avec les résultats obtenus dans notre propre étude.

L'étude menée par Babich et *al.* (2020) a révélé des DJE au DINP à partir des jouets, plus faibles par rapport à nos résultats. La DJE de DINP a été estimée à 2,2µg/kg/j pour les enfants de 3 à 12 mois, à 1,5µg/kg/j pour les enfants de 12-24 mois et à 1,3µg/kg/j pour les enfants de 24 à 36 mois [24]. La durée de mise en bouche était estimée à 0,45min/h dans la première classe (3-12 mois) et à 0,38min/h dans la tranche d'âge 12-24 mois et à 0,39min/h dans la troisième tranche 24-36 mois [24].

Corea-Téllez KS et *al.*, (2008), ont estimé les doses journalières de DEHP reçues par les enfants et les nourrissons mexicains utilisant des jouets en PVC souple. Les PVC plastifiés testés ont été préparés avec une forte teneur en DEHP (60% en poids).

La DJE a été estimée à 12,30µg/kg/j à partir des données de la migration *in vitro* (0,68µg/10cm²/min) et elle était de 18,12µg/kg/j en se basant sur la migration *in vivo* estimée à 1,01µg/10cm²/min. La durée de mise en bouche moyenne était de 29min par jour [33].

D'après l'étude de Kim DY et *al.* en 2020, l'évaluation de l'exposition des enfants aux cinq phtalates entre autre le DEHP et le DINP à partir de 1631 jouets en plastique achetés entre 2017 et 2019 en Corée, a révélé que l'exposition orale au DEHP et au DINP à partir de jouets, était de 5,0 x 10⁻¹mg/kg/j (valeur maximale) et 5,0 x 10⁻³mg/kg/j (valeur minimale) [243].

Le taux de migration a été fixé dans cette étude à 1,67µg/10cm²/min lorsque la concentration de la substance chimique est supérieure à 1% (p/p), et à 0,017µg/10cm²/min lorsque la concentration est inférieure à 1% (p/p) [243]. L'exposition la plus élevée a été notée dans le groupe d'âge le plus jeune et elle a été attribuée à la fréquence plus élevée des comportements de mise en bouche [243].

L'évaluation des phtalates dans les jouets basée sur le rapport du comité consultatif sur les risques chroniques de la commission de la sécurité des produits de consommation (CPSC au Etats-Unis), en 2015, s'est appuyée sur une méthodologie dérivée de l'analyse d'études utilisant soit une approche directe (études de biosurveillance de l'exposition interne) soit une approche indirecte (dérivation des estimations à partir de l'exposition externe) [36]. Dans l'ensemble, l'évaluation de l'exposition a montré que les jouets pour enfants ne constituaient pas les expositions aux phtalates les plus élevées pour toutes les sous-populations. Sur la base des données disponibles pour les phtalates individuels, les aliments et les boissons par l'ingestion directe constituaient les expositions les plus élevées [36].

CHAPITRE III. DISCUSSION

La DJE moyenne chez les nourrissons (< 12 mois) était de l'ordre de 20,7µg/kg/j pour le DINP et de 12,2 µg/kg/j pour le DEHP de toutes sources possibles.

La DJE moyenne chez les enfants (12-36 mois) était de l'ordre de 30,8µg/kg/j pour le DINP et de 15,7µg/kg/j pour le DEHP de toutes sources possibles.

Les nourrissons (< 12 mois) étaient principalement exposés au DINP et au DEHP. L'exposition des nourrissons au DINP était principalement due à l'alimentation (moyenne 66,89µg/kg/j), mais aussi au DINP contenu dans les jouets (12,8µg/kg/j). Ce dernier est de même grandeur que le résultat obtenu dans notre étude (14,19 ± 9,99µg/kg/j)

De même, l'exposition des nourrissons au DEHP était principalement due à l'alimentation (moyenne 41,1µg/kg/j), mais aussi au DEHP contenu dans les jouets (9,2µg/kg/j). Ce dernier est de même grandeur que le résultat obtenu dans notre étude (11,50 ± 6,84µg/kg/j) [36].

Outre les aliments, les autres sources principales d'exposition sont les produits de soins personnels par contact cutané [36].

Les enfants (de 1 à 3 ans) étaient principalement exposés au DINP et au DEHP. Pour les nourrissons et les enfants de 1 à 3 ans, plus de 50% de l'exposition au DINP et plus de 40% de l'exposition au DEHP provenaient de l'alimentation [36].

L'exposition dans cette classe d'âge (1 à 3 ans) aux phtalates par ingestion alimentaire était la plus élevée de toutes les sous-populations (moyenne estimée à 48µg/kg/j pour le DEHP et 77,9µg/kg/j pour le DINP), ceci est expliqué par le fait qu'ils consomment presque tous les produits alimentaires consommés par les adultes. Ils ont un poids corporel beaucoup plus faible et leur exposition quotidienne par poids corporel aux phtalates est plus élevée que celle des adultes.

Dans le rapport du CPSC, l'exposition de cette classe d'âge au DEHP *via* les jouets a été estimée à 5,2µg/kg/j et à 5,4µg/kg/j pour le DINP [36].

Les jouets (y compris la mise en bouche et la manipulation) contribuent modestement à l'exposition au DINP et au DEHP chez les nourrissons (de 9 à 13% environ) et les jeunes enfants (de 10 à 15% environ) [249].

La dose journalière de DINP estimée due à l'exposition orale suite à la mise en bouche de jouets contenant des phtalate importés d'Australie, pour un nourrisson de 6 mois était de 27,8µg/kg pc par jour (exposition typique) et de 169,9µg/kg pc par jour (exposition la plus défavorable) [4, 250]. Avec une plage de concentration de 0,005% à 35% avec un taux de migration estimé à 4,34µg/10cm²/min dans une exposition typique et à 9,65µg/10cm²/min dans le pire des cas, avec une fréquence d'exposition quotidienne et une durée de l'exposition de 0,8h/jour (typique) et de 2,2h/jour (cas le plus défavorable) [250].

CHAPITRE III. DISCUSSION

La caractérisation du risque permet de quantifier le risque attendu dans une population compte tenu de son exposition et de la toxicité de la substance mise en cause [3].

Une valeur de QD (HI) calculée de 1 indique que l'exposition peut provoquer un effet néfaste à la suite d'une exposition pendant toute la durée de la vie, mais normalement, il s'agirait d'un HI plusieurs fois supérieur à l'unité. Une valeur inférieure à 1 indique qu'aucun effet néfaste n'est attendu en cas d'exposition pendant toute la durée de la vie [32]. Les HI ont été calculés avec les VTR proposées par l'EFSA en prenant en considération la DJE maximale, minimale et moyenne dans chaque classe d'âge.

Pour le DEHP associé à des effets sur la reproduction et le développement, les valeurs de HI étaient inférieures à 1 pour les trois classes d'âge selon EFSA, quel que soit le niveau d'exposition considéré. De même, pour le DINP associé à des effets hépatotoxiques, les valeurs de HI étaient inférieures à 1 pour les trois classes d'âge selon EFSA.

Cependant, les résultats des HI calculés indiquent que les enfants en très bas âge (1-12 mois) sont plus exposés à un risque potentiel pour la santé par rapport aux enfants plus grands.

Notre étude a permis de conclure que l'exposition isolée au DINP ou au DEHP (indépendamment des autres sources d'exposition aux phtalates), lors de la mise en bouche de jouets en plastique souple n'est pas susceptible de présenter un risque pour la santé des enfants de moins de 36 mois dans le contexte d'une exposition chronique. Les expositions moyennes et maximale estimées pour les jouets étaient inférieures à la valeur de la DJA proposée par EFSA.

Il est important de signaler que l'exposition *via* les jouets ne représentent qu'une source parmi une multitude d'autres sources d'exposition aux phtalates, en grande partie mieux reconnues et plus significatives [20, 21]. Généralement, pour caractériser le risque éventuel pour la santé humaine, l'apport journalier d'exposition est comparé aux valeurs toxicologiques de référence à savoir les DJT [3]. La caractérisation du risque fait intervenir généralement plusieurs scénarios d'exposition qui n'ont pas été considérés dans notre étude et qui sous-estime le risque toxique [20].

En outre, dans notre travail, l'exposition au DEHP et au DINP à partir des jouets, ne constitue pas un risque pour la santé des enfants de moins de 36 mois, mais il est crucial de noter que l'exposition totale à un plus grand nombre de phtalates ayant aussi des effets anti-androgènes, reprotoxiques ou hépatotoxiques, provenant d'autres sources, peut contribuer dans l'apparition de l'effet néfaste sur la santé par addition du risque toxique. On parle de l'effet cocktail ou l'effet combiné [20]. Les effets combinés de plusieurs substances ayant le même effet peuvent être calculés en tant qu'effet additif en utilisant le concept d'addition de doses.

CHAPITRE III. DISCUSSION

Par conséquent, le risque total, est calculé en additionnant les valeurs de RCR (Rapport de Caractérisation des Risques) des substances individuelles. Le RCR total équivaut donc au risque total (cumulatif) auquel les enfants sont exposés, par exemple, par le biais de l'ensemble des phtalates ayant des effets anti-androgènes [20].

Selon la littérature scientifique, dans toutes les études expérimentales sur les phtalates, en combinaison avec d'autres produits chimiques, les effets du mélange étaient plus forts que l'effet des phtalates les plus puissants de la combinaison, ce qui aide à définir le champ d'application d'une évaluation des risques cumulés [36].

Dans l'étude de Ashworth MJ et *al.* (2018) [32], un HI total de 3,4 a été calculé pour les expositions combinées aux quatre phtalates associés à des effets néfastes sur la reproduction et le développement. Le HI calculé pour le groupe des phtalates anti-androgènes représente une exposition qui, dans le pire des cas, peut être suffisante pour produire des effets nocifs en cas d'exposition chronique,

Selon la même étude, l'indice de risque associé au DEHP seul, phtalate toxique pour le développement et la reproduction, après une exposition orale *via* des jouets en plastique, a été estimé à 0,7 pour une concentration maximale de DEHP de 54,1% et de 0,11 pour une concentration moyenne de DEHP de 8,62%. Les auteurs ont suivi les normes de l'EFSA dans leurs démarches. D'après ces résultats, nous pouvons constater que les calculs d'évaluation des risques indiquent qu'en utilisant des scénarios d'exposition réalistes, l'exposition combinée la plus défavorable aux phtalates associés à la toxicité pour le développement dépasse un HI de 1 et peut donc avoir des effets néfastes sur le développement [32]. Alors que, pris isolément, le phtalate ne serait pas considéré comme représentant un risque d'effets nocifs [32].

Dans la même étude, le HI dérivé pour les phtalates hépatotoxiques était inférieur à 1 (0,3), de sorte que, pris isolément, il ne serait pas considéré comme représentant un risque d'effets nocifs liés aux phtalates [32]. Dans le même contexte de recherche, les chercheurs ont également évalué l'indice du risque pour les phtalates hépatotoxique type DINP. Ces évaluations ont été réalisées suite à une exposition orale *via* des jouets en plastique. Les résultats indiquent un HI de 0,1 pour une concentration maximale de DINP de 32,3% et de 0,03 pour une concentration moyenne de DINP de 6,20% [32].

Les expositions décrites dans notre travail sont probablement des sous-estimations de l'apport journalier total, étant donné que nous n'avons pas inclus d'autres sources, notamment l'alimentation, d'autres matériaux intérieurs ou des produits de soins personnels.

CHAPITRE III. DISCUSSION

En outre, il convient également de signaler que l'exposition par le scénario et la voie proposés pour ces évaluations ne durera probablement pas toute la vie. Cependant, elle se produit pendant une période de développement critique.

Ces valeurs de l'indice du risque justifient des recherches plus approfondies, car plusieurs études suggèrent que les effets anti-androgéniques de l'exposition aux phtalates sur la reproduction pouvaient se produire à tous les stades de la vie et que les phtalates ne sont pas les seuls produits chimiques anti-androgéniques auxquels les humains sont exposés.

Aussi, Il a été démontré que certains polluants environnementaux tels que le bisphénol A, les parabènes et certains pesticides, présentent des effets anti-androgéniques et devraient donc être inclus dans cette évaluation des risques cumulatifs [251].



**CONCLUSION
GENERALE**

CONCLUSION GENERALE

Notre étude constitue la première en Algérie à évaluer l'exposition des enfants de moins de 36 mois au DEHP et au DINP *via* les jouets en PVC neufs commercialisés dans la région du Nord du pays. Elle constitue également le premier état des lieux toxicologique en Algérie sur le taux de phtalates préoccupants dans les jouets en plastique.

La dose journalière d'exposition au DEHP et au DINP a été calculée pour trois tranches d'âge distinctes : 1 à 12 mois, 12 à 24 mois et 24 à 36 mois. Une différence statistiquement significative a été observée entre les moyennes de DJE des trois groupes d'âge, la DJE étant plus élevée dans le premier groupe (1-12 mois).

L'exposition orale au DEHP et au DINP chez les enfants de moins de 36 mois était significativement inférieure aux doses journalières tolérables recommandées par l'EFSA. Cependant, le calcul de la DJE n'a pris en compte qu'une seule voie d'exposition (voie orale) et une seule source d'exposition (jouets en PVC). Il est crucial de considérer la contribution potentielle d'autres sources d'ingestion quotidienne de phtalates. L'exposition provenant de différentes voies d'exposition et d'autres sources doit être évaluée pour déterminer l'exposition totale.

Notre étude a permis de conclure que l'exposition au DINP ou au DEHP *via* les jouets en PVC lors de la mise en bouche de jouets en plastique souple n'est pas susceptible de présenter un risque pour la santé des enfants de moins de 36 mois dans le contexte d'une exposition chronique ($HI < 1$). Cependant, la caractérisation du risque fait intervenir généralement plusieurs scénarios d'exposition et plusieurs sources, ce que notre étude n'a pas pris en compte, sous-estimant ainsi le risque toxique.

De plus, l'exposition à différents phtalates ayant des effets similaires peut entraîner des effets combinés ou cocktails. Notre évaluation ne tient pas compte de ces effets combinés, ce qui peut conduire à une sous-estimation des risques. Etudier les substances "individuellement" sous-estime le risque lié à leurs expositions simultanées.

En conséquence, on ne peut écarter d'office l'hypothèse selon laquelle le cumul de sources et les effets cocktail pourraient aboutir à une conclusion différente d'apparition d'un risque sanitaire. Notre évaluation de l'exposition des enfants de moins de 36 mois au DEHP et au DINP est non exhaustive, cependant elle permet d'avoir une idée d'un ordre de grandeur sur l'exposition aux phtalates *via* les jouets en PVC.

La détermination de concentrations de DEHP et de DINP dans 149 jouets en PVC, ainsi que des essais de migration dans un simulant de salive et chez des adultes volontaires sains, ont été également réalisés.

CONCLUSION GENERALE

La révélation de pourcentages élevés en masse de phtalates type DEHP et DINP dans les échantillons analysés et leur migration *in vivo* et *in vitro* montre que les expositions des enfants de moins de 36 mois à ces substances potentiellement dangereuses pour la santé sont possibles. Nous avons conclu, la fréquence d'utilisation de DEHP dans les jouets en PVC par rapport au DINP. Parmi les 149 jouets en PVC analysés, 129 jouets (soit 86,6%) ont révélé des concentrations de DEHP dépassant les limites de quantification, tandis que 44 jouets (soit 29,5%) ont présenté des concentrations de DINP au-delà de ces seuils.

La concentration moyenne de DEHP dans les 129 jouets où il a été quantifié était de $7,63 \pm 9,80\%$, avec la valeur maximale atteignant 36,20%,

En ce qui concerne la concentration moyenne de DINP dans les 44 jouets où il a été quantifié, elle s'établissait à $4,69 \pm 10,14\%$. La valeur maximale était de 35,42%.

Plusieurs pays, dont l'UE, les États-Unis et le Canada, ont mis en place des règlements stricts limitant la concentration de phtalates dans les jouets à 0,1% en poids du jouet. En Algérie, l'absence de réglementation concernant les phtalates dans les jouets nous a incités à comparer nos résultats avec les normes internationales.

De nombreux jouets commercialisés sur le marché algérien contiennent des niveaux de phtalates dépassant les limites autorisées.

Le DEHP était l'origine de la non-conformité de 65,8% des jouets en PVC (soit 98 jouets). Notre étude a mis en évidence des concentrations de DEHP très variables, la concentration moyenne dans les jouets non conformes était de 10,03%. Le pourcentage massique le plus élevé mesuré étant plus de 362 fois supérieure à la limite autorisée (36,20%). La majorité des jouets non conformes en termes de teneur en DEHP étaient des jouets de bain.

La concentration du DINP dépassait la limite réglementaire dans 29,5% des jouets en PVC (soit 44 jouets). La moyenne de DINP dans ces jouets non conformes était de 4,69%. Le pourcentage massique le plus élevé mesuré étant plus de 354 fois supérieure à la limite autorisée dans de nombreux pays (35,42%). La majorité des jouets non conformes en termes de teneur en DINP étaient des animaux en plastique.

Nous avons conclu que 75,2% des jouets en PVC analysés (soit 112 jouets), étaient non conformes par rapport à leur teneur en phtalates (DEHP et/ou DINP).

La concentration la plus élevée de DEHP et de DINP a été constatée dans les jouets de bain.

Les phtalates ne sont pas chimiquement liés à la matrice du polymère PVC, ce qui facilite leur migration vers le milieu entrant en contact avec eux. Cette caractéristique explique la possibilité d'une exposition potentielle des enfants en raison de leur comportement de mise en bouche.

CONCLUSION GENERALE

Le taux de migration moyen de DEHP *in vitro* était de $1,54 \pm 0,92 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, le maximum était de $4,51 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ et le minimum était de $0,11 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$.

La fréquence de migration la plus élevée a été observé dans les poupées où 100% des poupées analysé ont révélé une migration de DEHP dans la salive artificielle, suivi par les jouets de bain, sur 32 jouets soumis au test de migration, 23 ont révélé une migration de DEHP, soit 71,87%. Le taux de migration de DEHP le plus élevé estimé à $4,51 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ a été révélé dans un jouet de bain (O₂₉).

Le taux moyen de migration de DINP s'est établi à $1,90 \pm 1,34 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, avec une valeur maximale de $4,25 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ et une valeur minimale de $0,42 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. Le jouet B₁₆, identifié comme un jouet de bain, a donné le taux de migration le plus élevé ($4,25 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$).

Sur l'ensemble des jouets non conforme par rapport au DEHP et qui ont subi le test de migration salivaire *in vitro* (n=44), 13 jouets ont donné un taux de migration supérieur à la valeur guide fixée à $1,67 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ (soit 29,54%), et aucune jouet n'a donné un taux de migration de DINP supérieur à la valeur guide de migration fixées à $6,67 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$.

Nous avons constaté une forte corrélation, statistiquement significative, entre le taux de migration *in vitro* de DEHP et la teneur des jouets en DEHP (p/p). Cependant, nous avons observé une corrélation moyenne, statistiquement non significative, entre le taux de migration du DINP *in vitro* et la teneur du jouet en DINP (p/p).

Le taux moyen de migration *in vivo* de DEHP était de $0,68 \pm 0,33 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. Le maximum était de $1,36 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, tandis que le minimum était de $0,12 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$.

Le taux de migration de DEHP le plus élevé, estimé à $1,36 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, a été révélé dans une poupée (A₃₃).

Il est important de noter que le DINP a migré vers la salive naturelle des adultes volontaires exclusivement à partir des jouets de bain. Le taux de migration *in vivo* moyen de DINP était de $0,97 \pm 0,40 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$. Le taux de migration maximum observé était de $1,42 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, tandis que le taux minimum était de $0,44 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$.

Aucun jouet n'a présenté un taux de migration *in vivo* de DEHP ou de DINP supérieur à la valeur guide.

Dans les 24 jouets qui ont révélé une migration de DEHP *in vivo*, le taux moyen de migration DEHP *in vivo* a été estimé à $0,68 \pm 0,33 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, et le taux de DEHP a été estimé à $17,67\% \pm 9,39\%$.

Nous avons constaté une faible corrélation, statistiquement non significative, entre le taux de migration de DEHP *in vivo* et la teneur en DEHP (p/p).

CONCLUSION GENERALE

Comme dans le test de migration salivaire *in vitro*, la migration *in vivo* n'a été observée que pour les teneurs élevées en phtalates.

Dans les 4 jouets qui ont révélé une migration *in vivo* de DINP, le taux moyen de migration a été estimé à $0,97 \pm 0,40 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, et le taux de DINP a été estimé à $35,17\% \pm 0,17\%$.

La corrélation entre la teneur de jouet en DINP et la migration vers la salive des adultes volontaires était statistiquement non significative.

Nous avons constaté une corrélation moyenne, statistiquement non significative, entre le taux de migration DEHP *in vitro* et *in vivo*. Le taux de migration moyen du DEHP *in vivo* a été estimé à $0,68 \pm 0,34 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ et à $1,88 \pm 1,07 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ *in vitro*. Cette différence était statistiquement significative.

La corrélation entre le taux de migration de DINP *in vitro* et *in vivo* a montré une faible corrélation, statistiquement non significative. Le taux de migration de DINP *in vivo* a été estimé à $0,97 \pm 0,40 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ et à $2,49 \pm 1,24 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ *in vitro*. Cette différence était statistiquement non significative.

Trop de facteurs affectent les taux de migration, notamment en ce qui concerne le dispositif expérimental, tant pour la détermination des taux de migration *in vitro* que pour celle des taux de migration *in vivo*.

PERSPECTIVES ET RECOMMANDATIONS

1. Sur l'accès du public à l'information

- Améliorer l'accès aux informations fiables sur les données de produits de consommation, y compris les jouets, sur un site institutionnel.

2. Sur la filière du jouet au niveau réglementaire

- Proposer des limites réglementaires algériennes pour les phtalates dans les jouets en plastique.
- La notion d'effet cocktail est incontournable et la réglementation devrait être rapidement adaptée pour en tenir compte.
- Intégrer l'obligation de réaliser des essais de migration dans un simulant de salive avant la mise sur le marché des jouets destinés aux enfants de moins de 36 mois.

3. Sur la méthodologie

- Notre analyse, réalisée sur 271 jouets en plastique, ne présente ni caractère aléatoire ni représentativité exhaustive des jouets disponibles sur le marché algérien. Toutefois, la révélation de pourcentages élevés en masse de phtalates type DEHP et DINP dans les

CONCLUSION GENERALE

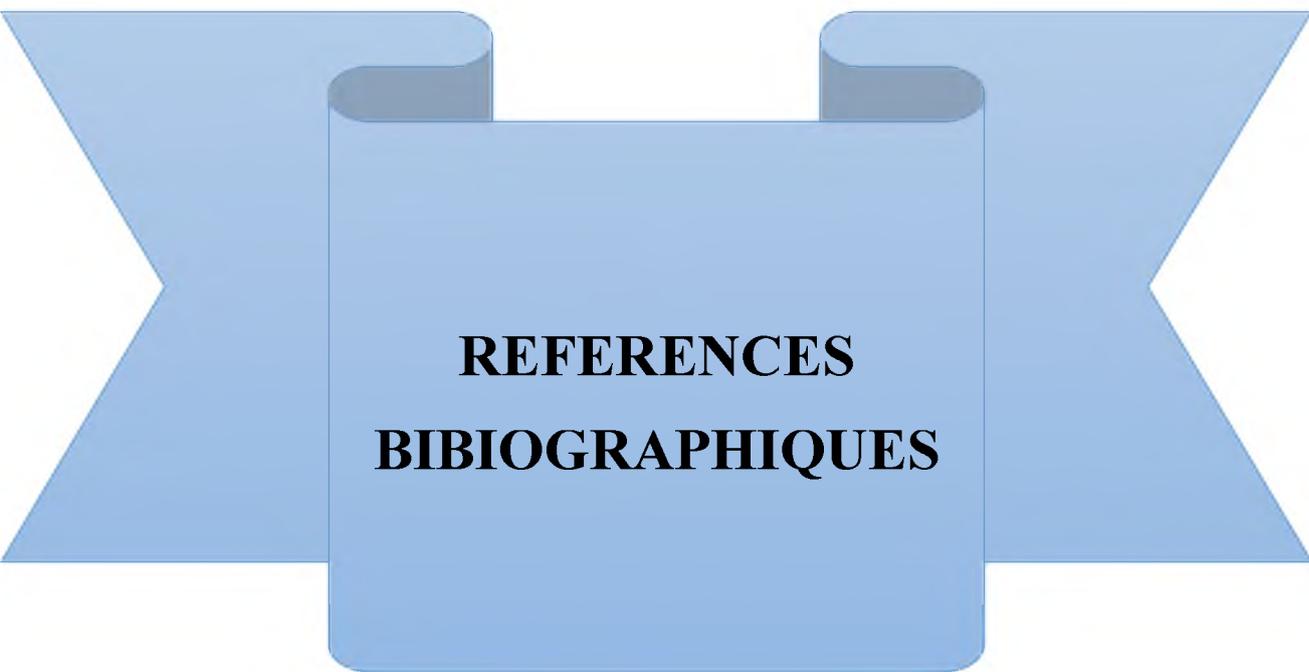
échantillons analysés et leur migration *in vivo* et *in vitro* montre que les expositions des enfants de moins de 36 mois à ces substances potentiellement dangereuses pour la santé sont possibles.

- La réalisation des essais sur des jouets usés, anciens ou artificiellement vieillis est recommandée, afin d'obtenir des informations sur l'évolution de la migration.

4. Sur l'évaluation des risques sanitaires

- Seule la migration dans un simulant de salive *via* la mise en bouche des jouets a été investiguée dans notre travail. Or, d'autres scénarios d'exposition pourraient être considérés en lien avec l'utilisation d'un jouet en matière plastique. Nous suggérons de réaliser des études complémentaires afin d'évaluer la contribution de chaque voie à l'exposition des enfants lors d'un contact avec un jouet en matière plastique.

- D'autre part, certaines de ces phtalates ont été retrouvées dans d'autres médias (objets, air, poussières, alimentation, *etc.*), d'où l'intérêt de renseigner les niveaux d'exposition des enfants *via* ces médias en vue d'une évaluation agrégée.



**REFERENCES
BIBIOPHAPIQUES**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Monneret C. What is an endocrine disruptor? *Comptes rendus biologiques*. 2017;340 (9-10):403-5.
2. Casals-Casas C, Desvergne B. Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption. *Annual review of physiology*. 2011;73:135-62.
3. ANSES. AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif aux « Jouets et équipements pour enfants en matière plastique destinés aux enfants de moins de 3 ans ». 2016.
4. OCDE. Estimating mouthing exposure in children – Compilation of case studies. Paris: 2019. Contract No.: JT03449943.
5. Kirchnawy C, Hager F, Osorio Piniella V, Jeschko M, Washüttl M, Mertl J, et al. Potential endocrine disrupting properties of toys for babies and infants. *PloS one*. 2020;15(4):e0231171.
6. Juberg DR, Alfano K, Coughlin RJ, Thompson KM. An observational study of object mouthing behavior by young children. *Pediatrics*. 2001;107(1):135-42.
7. Xue J, Zartarian V, Moya J, Freeman N, Beamer P, Black K, et al. A meta-analysis of children's hand-to-mouth frequency data for estimating nondietary ingestion exposure. *Risk Analysis: An International Journal*. 2007;27(2):411-20.
8. Norris B, Smith S. Research into the mouthing behaviour of children up to 5 years old. 2002.
9. SCHER. Final Opinion on Estimates of the amount of toy materials ingested by children. 2016.
10. Korfali SI, Sabra R, Jurdi M, Taleb RI. Assessment of toxic metals and phthalates in children's toys and clays. *Archives of environmental contamination and toxicology*. 2013;65(3):368-81.
11. Benboudiaf S. Thèse de doctorat en sciences médicales : Evaluation des taux de métaux dans les jouets commercialisés dans l'EST Algérien: université Ferhat Abbas Sétif 1; 2020.
12. Rodrigues M, Abrantes N, Gonçalves F, Nogueira H, Marques J, Gonçalves A. Impacts of plastic products used in daily life on the environment and human health: What is known? *Environmental toxicology and pharmacology*. 2019;72:103239.
13. Akkbik M, Turksoy VA, Koçoğlu S. Simultaneous quantitative detection of 10 phthalates in PVC children's toys by HPLC-PDA. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 2019;30 (1):33-8.
14. INRS. Matières plastiques et adjuvants. Hygiène et sécurité. Paris: 2006. Contract No.: INRS ED 638.
15. National Research Council Committee on the Health Risks of P. Phthalates and Cumulative Risk Assessment : The Tasks Ahead Washington (DC): National Academies Press (US) 2008. 208 p.
16. Al-Natsheh M, Alawi M, Fayyad M, Tarawneh I. Simultaneous GC–MS determination of eight phthalates in total and migrated portions of plasticized polymeric toys and childcare articles. *Journal of Chromatography B*. 2015;985:103-9.
17. OCDE. Socio-economic assessment of phthalates. 2018 Contract No.: ENV/WKP(2018)7.
18. Adewuyi G, Olowu R. High performance liquid chromatographic (HPLC) method for comparison of levels of some phthalate esters in children's toys and their health implications. *The Pacific Journal of Science and Technology*. 2012;13(2):251-60.
19. DanishEPA. Identification and assessment of alternatives to selected phthalates. . Copenhagen, Danemark: EPA Danish (Danish Environmental Protection Agency), 2010 Environmental Project No. 1341, 2010. .
20. DanishEPA. Survey and health assessment of phthalates in toys and other products for children. Denmark : 2015. Contract No.: No. 139.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

21. Luís C, Algarra M, Câmara JS, Perestrelo R. Comprehensive insight from phthalates occurrence: From health outcomes to emerging analytical approaches. *Toxics*. 2021;9 (7):157.
22. Xie M, Wu Y, Little JC, Marr LC. Phthalates and alternative plasticizers and potential for contact exposure from children's backpacks and toys. *Journal of exposure science & environmental epidemiology*. 2015;26(1):119-24.
23. Zareh M, Abd ElReheem M, El-Farargy A, Gouda M. Evaluation of Phthalate Levels in Toys in Egyptian Market. *Egyptian Journal of Chemistry*. 2020;63(6):3-4.
24. Babich MA, Bevington C, Dreyfus MA. Plasticizer migration from children's toys, child care articles, art materials, and school supplies. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2020;111:104574.
25. Benjamin S, Masai E, Kamimura N, Takahashi K, Anderson RC, Faisal PA. Phthalates impact human health: epidemiological evidences and plausible mechanism of action. *Journal of hazardous materials*. 2017;340:360-83.
26. Johnson S, Saikia N, Sahu R. Phthalates in toys available in Indian market. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. 2011;86(6):621.
27. Bouma K, Schakel D. Migration of phthalates from PVC toys into saliva simulat by dynamic extraction. *Food Additives & Contaminants*. 2002;19(6):602-10.
28. Rastogi S, Jensen G, Worsøe I. Compliance testing of phthalates in toys : Analytical chemical control of chemical substances and products. 2003 Contract No.: 185.
29. Johnson S, Saikia N, Sahu R. Phthalates in Toys. Centre for Science and Environment. 2010.
30. Babich MA. Updated risk assessment of oral exposure to diisononyl phthalate (DINP) in children's products. Bethesda, MD, US Consumer Product Safety Commission. 2002.
31. Babich MA, Chen S-B, Greene MA, Kiss CT, Porter WK, Smith TP, et al. Risk assessment of oral exposure to diisononyl phthalate from children's products. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2004;40 (2):151-67.
32. Ashworth MJ, Chappell A, Ashmore E, Fowles J. Analysis and Assessment of Exposure to Selected Phthalates Found in Children's Toys in Christchurch, New Zealand. *International journal of environmental research and public health*. 2018;15 (2).
33. Corea-Téllez KS, Bustamante-Montes P, García-Fábila M, Hernández-Valero MA, Vazquez-Moreno F. Estimated risks of water and saliva contamination by phthalate diffusion from plasticized polyvinyl chloride. *Journal of environmental health*. 2008;71 (3):34.
34. Joint Market Surveillance Action co-funded by the European Union Grant Agreement no. 705038 — JA2015 – GPSD. Final Technical Report chemical risks in plasticised toys. 2018.
35. Shea KM. Pediatric exposure and potential toxicity of phthalate plasticizers. *Pediatrics*. 2003;111 (6 Pt 1):1467-74.
36. Lioy PJ, Hauser R, Gennings C, Koch HM, Mirkes PE, Schwetz BA, et al. Assessment of phthalates/phthalate alternatives in children's toys and childcare articles: Review of the report including conclusions and recommendation of the Chronic Hazard Advisory Panel of the Consumer Product Safety Commission. *Journal of exposure science & environmental epidemiology*. 2015;25 (4):343-53.
37. Shelby MD. NTP-CERHR monograph on the potential human reproductive and developmental effects of di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP). *Ntp Cerhr Mon*. 2006(18):v, vii.
38. Colón I, Caro D, Bourdony CJ, Rosario O. Identification of phthalate esters in the serum of young Puerto Rican girls with premature breast development. *Environmental health perspectives*. 2000;108 (9):895-900.
39. Melnick RL. Is peroxisome proliferation an obligatory precursor step in the carcinogenicity of di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)? *Environmental Health Perspectives*. 2001;109(5):437-42.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

40. Lioy PJ, Hauser R, Gennings C, Koch HM, Mirkes PE, Schwetz BA, et al. Assessment of phthalates/phthalate alternatives in children's toys and childcare articles: Review of the report including conclusions and recommendation of the Chronic Hazard Advisory Panel of the Consumer Product Safety Commission. *Journal of exposure science & environmental epidemiology*. 2015;25 (4):343-53.
41. RIVM. Chemicals in Toys. A general methodology for assessment of chemical safety of toys with a focus on elements. 2008.
42. RIVM. Phthalate release from soft PVC baby toys. The Netherlands : Dutch Consensus Group, 1998. Contract No.: 613320002.
43. Commission USCPS. Toxicity review of diisononyl phthalate (DINP). United States Consumer Product Safety Commission. 2010.
44. Niino T, Azakura T, Ishibashi T, Itho T, Sakai S, Ishiwata H, et al. A Simple and Reproducible Testing Method for Dialkyl Phthalate Migration from Polyvinyl Chloride Products into Saliva Simulant. *J Food Hyg Soc Japan*. 2003;44 (1):13-8.
45. Niino T, Ishibashi T, Itho T, Sakai S, Ishiwata H, Yamada T, et al. Monoester formation by hydrolysis of dialkyl phthalate migrating from polyvinyl chloride products in human saliva. *Journal of health science*. 2001;47 (3):318-22.
46. CPSC U. Chronic hazard advisory panel on diisononyl phthalate (DINP). 2001.
47. SCTEE. Opinion on phthalate migration from soft PVC toys and childcare articles Brussels1998 Available from: Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment (EU Committee DG S ancto), 27 November 1998, Opinion on phthalate migration from soft PVC toys and childcare articles data made available since the 16th of June 1998. Brussels, 6th Plenary Meeting.
48. OMS. Un monde durable en héritage? Atlas de la santé infantile et de l'environnement (Inheriting a sustainable world? Atlas on children's health and environment). Genève 2018. p. 164.
49. ECHA. ANNEX XVII TO REACH – Conditions of restriction. 2006.
50. Décret n°2006-1361 du 9 novembre 2006 relatif à la limitation de l'emploi de certains phthalates dans les jouets et les articles de puériculture. 2006.
51. Règlement sur les phthalates (DORS/2016-188) Canada: Ministre de la Justice; 2020 [updated 21 octobre 2020]. Available from: <https://laws-lois.justice.gc.ca/fra/reglements/DORS-2016-188/index.html>.
52. Prohibition of Children's Toys and Child Care Articles Containing Specified Phthalates, 16 CFR part 1307 (2017).
53. Arrêté du ministre de l'industrie, du commerce, de l'investissement et de l'économie numérique n°2575-14 du 29 ramadan 1436 (16 juillet 2015) relatif à la sécurité des jouets, (2015).
54. Ministère du commerce. Textes législatifs et réglementaire spécifiques - Jeux et jouets Algérie [cited 2020]. Available from: <https://www.commerce.gov.dz/reglementation/recueil/-188>.
55. Journal Officiel de la République Algérienne. Arrêté interministériel du 6 Chaoual 1437 correspondant au 11 juillet 2016 portant adoption du règlement technique fixant les exigences de sécurité des articles de puériculture. 68. 2016:16-7.
56. CACQE. Bilans de l'activité analytique Algérie: Centre Algérien du Contrôle de la Qualité et de l'Emballage Available from: <http://www.cacqe.org/bilans.asp>.
57. JORAn°85. Décret exécutif n° 97-494 du 21 Chaabane 1418 correspondant au 21 Décembre 1997 relatif à la prévention des risques résultant de l'usage des jouets. 1997.
58. Directive 2009/48/CE du parlement européen et du conseil du 18 juin 2009 relative à la sécurité des jouets, (2009).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

59. Canada S. Guide destiné à l'industrie sur les exigences de Santé Canada en matière de sécurité des jouets pour enfants et des produits connexes Ottawa, Ontario [updated 20-10-2021; cited 2021 30-12]. Available from: <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/securite-produits-consommation/rapports-publications/industrie-professionnels/guide-destine-industrie-exigences-matiere-securite-jouets-enfants-produits-connexes-sommaire/document-reference.html>.
60. Healey A, Mendelsohn A, Sells JM, Donoghue E, Earls M, Hashikawa A, et al. Selecting appropriate toys for young children in the digital era. *Pediatrics*. 2019;143 (1).
61. Turner A. Concentrations and migratabilities of hazardous elements in second-hand children's plastic toys. *Environmental science & technology*. 2018;52 (5):3110-6.
62. Oyeyiola AO, Akinyemi MI, Chiedu IE, Fatunsin OT, Olayinka KO. Statistical analyses and risk assessment of potentially toxic metals (PTMS) in children's toys. *Journal of Taibah University for Science*. 2017;11 (6):842-9.
63. Safety of toys. Part 8: Age determination guidelines PD CEN ISO/TR 8124-8:2016. 2018.
64. Safety of toys. Part 8: Age determination guidelines (ISO/TR 8124-8:2016): european committee for standardization.
65. CEN. Document d'orientation N°11 sur l'application de la directive relative à la sécurité des jouets (88/378/CEE). 2009.
66. Statista Research Department. Valeur des ventes de jouets dans le monde 2005-2021 2023 [27-03-2024]. Available from: <https://fr.statista.com/statistiques/881623/marche-jouets-valeur-monde/>.
67. Kang S, Zhu J. Total lead content and its bioaccessibility in base materials of low-cost plastic toys bought on the Beijing market. *Journal of Material Cycles and Waste Management*. 2015;17 (1):63-71.
68. Rangaswamy J, Kumar T, Bhalla K. A Comprehensive Life-Cycle Assessment of Locally Oriented Small-Scale Toy Industries: A Study of traditional Channapatna Toys as Against Low-cost PVC (Poly-Vinyl Chloride) Toys Made in China. *Procedia CIRP*. 2018;69:487-92.
69. NPD. U.S. Toy Industry Sales Experience 2% Increase in the First Half of 2022 2022 [updated 11/08/2022 14/07/2023].
70. Statista Research Department. Valeur du marché du jouet dans une sélection de pays au niveau mondial en 2018 2023 [27-03-2024]. Available from: <https://fr.statista.com/statistiques/881245/marche-jouet-valeur-differents-pays-monde/>.
71. Ricard L-E. Les perturbateurs endocriniens dans l'environnement de l'enfant et de l'adolescent et les risques pour la santé. L'exemple des phtalates et du bisphénol A: UHP- Université Henri Poincaré; 2011.
72. INRS. Plastiques, risque et analyse chimique -Les additifs. 2019.
73. Gao D, Li Z, Wang H, Liang H. An overview of phthalate acid ester pollution in China over the last decade: Environmental occurrence and human exposure. *Science of the Total Environment*. 2018;645:1400-9.
74. Almeras C, Cacan Y, Géreec V, Millet M. Projet PERSAN les phtalates. École des Hautes Études en Santé Publiques. 2010;42.
75. Frederiksen H, Skakkebaek NE, Andersson AM. Metabolism of phthalates in humans. *Molecular nutrition & food research*. 2007;51 (7):899-911.
76. Holahan MR, Smith CA. Phthalates and neurotoxic effects on hippocampal network plasticity. *Neurotoxicology*. 2015;48:21-34.
77. Sathyanarayana S. Phthalates and children's health. Current problems in pediatric and adolescent health care. 2008;2 (38):34-49.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

78. Saillenfait A-M, Laudet-Hesbert A. Phtalates. EMC-Toxicologie-Pathologie. 2005;2(1):1-13.
79. GERMAN S. DESS de cosmétologie. Les phtalates : Université de Québec à Chicoutimi ; 2014.
80. ISO8124-6. Safety of toys - Part 6 : Certain phthalate esters in toys and children's products. Sécurité des jouets -Partie 6 : Dosage de certains esters de phtalates dans les jouets et produits pour enfants. 2018.
81. Wormuth M, Scheringer M, Vollenweider M, Hungerbühler K. What are the sources of exposure to eight frequently used phthalic acid esters in Europeans? Risk Analysis. 2006;26(3):803-24.
82. Abouejal N. Thèse de doctorat en sciences médicales : Evaluation des niveaux d'exposition aux phtalates chez une population urbaine: Abou Bekr Belkaid. Université de Tlemcen; 2020.
83. Kumar N, Srivastava S, Roy P. Impact of low molecular weight phthalates in inducing reproductive malfunctions in male mice: Special emphasis on Sertoli cell functions. General and Comparative Endocrinology. 2015;215:36-50.
84. Swan SH, Main KM, Liu F, Stewart SL, Kruse RL, Calafat AM, et al. Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. Environmental health perspectives. 2005;113(8):1056-61.
85. Ventrice P, Ventrice D, Russo E, De Sarro G. Phthalates: European regulation, chemistry, pharmacokinetic and related toxicity. Environmental toxicology and pharmacology. 2013;36 (1):88-96.
86. ANSES. Connaissances relatives aux données de toxicité sur les composés de la famille des Phtalates (Tome 3). 2015.
87. Koch HM, Bolt HM, Angerer J. Di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) metabolites in human urine and serum after a single oral dose of deuterium-labelled DEHP. Archives of toxicology. 2004;78:123-30.
88. Letourneux C-É. Le prématuré: besoins nutritionnels et retour à domicile 2004.
89. Latini G, Verrotti A, De Felice C. Di-2-ethylhexyl phthalate and endocrine disruption: a review. Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders. 2004;4 (1):37-40.
90. Kim SH, Park MJ. Phthalate exposure and childhood obesity. Annals of pediatric endocrinology & metabolism. 2014;19(2):69.
91. Effets des phtalates. Environnement et Reproduction, <http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/222/?sequence=24>.
92. Dallot C. Perturbation de la fonction thyroïdienne: mise en place d'une stratégie de criblage des produits chimiques: Nice; 2015.
93. Mécanismes d'action des phtalates Environnement et Reproduction, <http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/222/?sequence=52>.
94. Sarath Josh M, Pradeep S, Vijayalekshmy Amma K, Sudha Devi R, Balachandran S, Sreejith M, et al. Human ketosteroid receptors interact with hazardous phthalate plasticizers and their metabolites: an in silico study. Journal of Applied Toxicology. 2016;36 (6):836-43.
95. Sarath Josh M, Pradeep S, Balan AK, Sreejith M, Benjamin S. Accessing the molecular interactions of phthalates and their primary metabolites with the human pregnane X receptor using in silico profiling. Journal of Applied Toxicology. 2016;36 (12):1599-604.
96. Sarath Josh M, Pradeep S, Adarsh V, Vijayalekshmi Amma K, Sudha Devi R, Balachandran S, et al. In silico evidences for the binding of phthalates onto human estrogen receptor α , β subtypes and human estrogen-related receptor γ . Molecular Simulation. 2014;40 (5):408-17.
97. Sarath Josh M, Pradeep S, Vijayalekshmi Amma K, Balachandran S, Abdul Jaleel U, Doble M, et al. Phthalates efficiently bind to human peroxisome proliferator activated receptor

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- and retinoid X receptor α , β , γ subtypes: an in silico approach. *Journal of Applied Toxicology*. 2014;34(7):754-65.
98. Tsai C-F, Hsieh T-H, Lee J-N, Hsu C-Y, Wang Y-C, Lai F-J, et al. Benzyl butyl phthalate induces migration, invasion, and angiogenesis of Huh7 hepatocellular carcinoma cells through nongenomic *AhR*/G-protein signaling. *BMC cancer*. 2014;14(1):1-13.
99. Carbone V, Velkov T. Interaction of phthalates and phenoxy acid herbicide environmental pollutants with intestinal intracellular lipid binding proteins. *Chemical Research in Toxicology*. 2013;26 (8):1240-50.
100. Rajesh P, Balasubramanian K. Phthalate exposure in utero causes epigenetic changes and impairs insulin signalling. *J Endocrinol*. 2014;223 (1):47-66.
101. Wu S, Zhu J, Li Y, Lin T, Gan L, Yuan X, et al. Dynamic effect of di-2-(ethylhexyl) phthalate on testicular toxicity: epigenetic changes and their impact on gene expression. *International journal of toxicology*. 2010;29 (2):193-200.
102. Manikkam M, Tracey R, Guerrero-Bosagna C, Skinner MK. Plastics derived endocrine disruptors (BPA, DEHP and DBP) induce epigenetic transgenerational inheritance of obesity, reproductive disease and sperm epimutations. *PloS one*. 2013;8 (1):e55387.
103. Li L, Zhang T, Qin X-S, Ge W, Ma H-G, Sun L-L, et al. Exposure to diethylhexyl phthalate (DEHP) results in a heritable modification of imprint genes DNA methylation in mouse oocytes. *Molecular biology reports*. 2014;41 (3):1227-35.
104. Kang K-S, Lee Y-S, Kim H-S, Kim SH. DI-(2-ethylhexyl) phthalate-induced cell proliferation is involved in the inhibition of gap junctional intercellular communication and blockage of apoptosis in mouse Sertoli cells. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*. 2002;65 (5-6):447-59.
105. Doyle TJ, Bowman JL, Windell VL, McLean DJ, Kim KH. Transgenerational effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate on testicular germ cell associations and spermatogonial stem cells in mice. *Biology of reproduction*. 2013;88 (5):112, 1-15.
106. Lee H-C, Yamanouchi K, Nishihara M. Effects of perinatal exposure to phthalate/adipate esters on hypothalamic gene expression and sexual behavior in rats. *Journal of Reproduction and Development*. 2006 : 0602200033-.
107. LaRocca J, Binder AM, McElrath TF, Michels KB. The impact of first trimester phthalate and phenol exposure on IGF2/H19 genomic imprinting and birth outcomes. *Environmental research*. 2014 ;133:396-406.
108. Pocar P, Fiandanese N, Secchi C, Berrini A, Fischer B, Schmidt JS, et al. Exposure to di (2-ethyl-hexyl) phthalate (DEHP) in utero and during lactation causes long-term pituitary-gonadal axis disruption in male and female mouse offspring. *Endocrinology*. 2012;153(2):937-48.
109. Uren-Webster TM, Lewis C, Filby AL, Paull GC, Santos EM. Mechanisms of toxicity of di (2-ethylhexyl) phthalate on the reproductive health of male zebrafish. *Aquatic toxicology*. 2010;99 (3):360-9.
110. Ge R-S, Chen G-R, Tanrikut C, Hardy MP. Phthalate ester toxicity in Leydig cells: developmental timing and dosage considerations. *Reproductive Toxicology*. 2007;23 (3):366-73.
111. Sharpe RM, Skakkebaek NE. Testicular dysgenesis syndrome: mechanistic insights and potential new downstream effects. *Fertility and sterility*. 2008;89 (2):e33-e8.
112. Ma M, Kondo T, Ban S, Umemura T, Kurahashi N, Takeda M, et al. Exposure of prepubertal female rats to inhaled di (2-ethylhexyl) phthalate affects the onset of puberty and postpubertal reproductive functions. *Toxicological Sciences*. 2006;93(1):164-71.
113. Shanle EK, Xu W. Endocrine disrupting chemicals targeting estrogen receptor signaling: identification and mechanisms of action. *Chemical research in toxicology*. 2011;24 (1):6-19.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

114. Takeuchi S, Iida M, Kobayashi S, Jin K, Matsuda T, Kojima H. Differential effects of phthalate esters on transcriptional activities via human estrogen receptors α and β , and androgen receptor. *Toxicology*. 2005;210 (2-3):223-33.
115. Lovekamp-Swan T, Davis BJ. Mechanisms of phthalate ester toxicity in the female reproductive system. *Environmental health perspectives*. 2003;111 (2):139-45.
116. Takeshita A, Inagaki K, Igarashi-Migitaka J, Ozawa Y, Koibuchi N. The endocrine disrupting chemical, diethylhexyl phthalate, activates MDR1 gene expression in human colon cancer LS174T cells. *Journal of endocrinology*. 2006;190 (3):897-902.
117. Chen F-P, Chien M-H. Lower concentrations of phthalates induce proliferation in human breast cancer cells. *Climacteric*. 2014;17 (4):377-84.
118. Hsieh TH, Tsai CF, Hsu CY, Kuo PL, Lee JN, Chai CY, et al. Phthalates induce proliferation and invasiveness of estrogen receptor-negative breast cancer through the *AhR/HDAC6/c-Myc* signaling pathway. *The FASEB Journal*. 2012;26 (2):778-87.
119. Konduracka E, Krzemieniecki K, Gajos G. Relationship between everyday use cosmetics and female breast cancer. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej= Polish Archives of Internal Medicine*. 2014;124(5).
120. Chen X, Wang J, Qin Q, Jiang Y, Yang G, Rao K, et al. Mono-2-ethylhexyl phthalate induced loss of mitochondrial membrane potential and activation of Caspase3 in HepG2 cells. *Environmental toxicology and pharmacology*. 2012;33 (3):421-30.
121. OMS. Diabète. 2022 [updated 16 Septembre 2022]. Available from: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>.
122. Lind PM, Zethelius B, Lind L. Circulating levels of phthalate metabolites are associated with prevalent diabetes in the elderly. *Diabetes care*. 2012;35(7):1519-24.
123. Trasande L, Spanier AJ, Sathyanarayana S, Attina TM, Blustein J. Urinary phthalates and increased insulin resistance in adolescents. *Pediatrics*. 2013;132 (3):e646-e55.
124. Huang T, Saxena AR, Isganaitis E, James-Todd T. Gender and racial/ethnic differences in the associations of urinary phthalate metabolites with markers of diabetes risk: National Health and Nutrition Examination Survey 2001–2008. *Environmental Health*. 2014;13(1):1-10.
125. Sun Q, Cornelis MC, Townsend MK, Tobias DK, Eliassen AH, Franke AA, et al. Association of urinary concentrations of bisphenol A and phthalate metabolites with risk of type 2 diabetes: a prospective investigation in the Nurses' Health Study (NHS) and NHSII cohorts. *Environmental health perspectives*. 2014;122 (6):616-23.
126. Attina TM, Trasande L. Association of exposure to di-2-ethylhexylphthalate replacements with increased insulin resistance in adolescents from NHANES 2009–2012. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2015;100 (7):2640-50.
127. Casals-Casas C, Desvergne B. Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption. 2011.
128. Sharpe RM, Drake AJ. Obesogens and obesity—an alternative view? *Obesity*. 2013;21(6):1081-3.
129. Desvergne B, Feige JN, Casals-Casas C. PPAR-mediated activity of phthalates: a link to the obesity epidemic? *Molecular and cellular endocrinology*. 2009;304(1-2):43-8.
130. North ML, Takaro TK, Diamond ML, Ellis AK. Effects of phthalates on the development and expression of allergic disease and asthma. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2014;112 (6):496-502.
131. Braun JM, Sathyanarayana S, Hauser R. Phthalate exposure and children's health. *Current opinion in pediatrics*. 2013;25 (2):247.
132. Kuo CH, Hsieh CC, Kuo HF, Huang MY, Yang SN, Chen LC, et al. Phthalates suppress type I interferon in human plasmacytoid dendritic cells via epigenetic regulation. *Allergy*. 2013;68 (7):870-9.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

133. Wang I-J, Karmaus WJ, Chen S-L, Holloway JW, Ewart S. Effects of phthalate exposure on asthma may be mediated through alterations in DNA methylation. *Clinical epigenetics*. 2015;7 (1):1-9.
134. Gascon M, Casas M, Morales E, Valvi D, Ballesteros-Gómez A, Luque N, et al. Prenatal exposure to bisphenol A and phthalates and childhood respiratory tract infections and allergy. *Journal of allergy and clinical immunology*. 2015;135(2):370-8. e7.
135. Wu H, Zhang W, Zhang Y, Kang Z, Miao X, Na X. Novel insights into di-(2-ethylhexyl)phthalate activation: Implications for the hypothalamus-pituitary-thyroid axis. *Molecular medicine reports*. 2021;23 (4).
136. Mariana M, Cairrao E. Phthalates implications in the cardiovascular system. *Journal of cardiovascular development and disease*. 2020;7 (3):26.
137. Grun F, Blumberg B. Minireview: the case for obesogens. *Molecular Endocrinology*. 2009;23(8):1127-34.
138. Benjamin S, Pradeep S, Josh MS, Kumar S, Masai E. A monograph on the remediation of hazardous phthalates. *Journal of Hazardous Materials*. 2015;298:58-72.
139. Muscogiuri G, Colao A. Phthalates: new cardiovascular health disruptors? *Archives of toxicology*. 2017;91 (3):1513-7.
140. Trasande L, Attina TM, Sathyanarayana S, Spanier AJ, Blustein J. Race/ethnicity-specific associations of urinary phthalates with childhood body mass in a nationally representative sample. *Environmental health perspectives*. 2013;121 (4):501-6.
141. Teitelbaum SL, Mervish N, Moshier EL, Vangeepuram N, Galvez MP, Calafat AM, et al. Associations between phthalate metabolite urinary concentrations and body size measures in New York City children. *Environmental research*. 2012;112:186-93.
142. Wang H, Zhou Y, Tang C, He Y, Wu J, Chen Y, et al. Urinary phthalate metabolites are associated with body mass index and waist circumference in Chinese school children. *PloS one*. 2013;8(2):e56800.
143. Buser MC, Murray HE, Scinicariello F. Age and sex differences in childhood and adulthood obesity association with phthalates: analyses of NHANES 2007–2010. *International journal of hygiene and environmental health*. 2014;217 (6):687-94.
144. Zhang Y, Meng X, Chen L, Li D, Zhao L, Zhao Y, et al. Age and sex-specific relationships between phthalate exposures and obesity in Chinese children at puberty. *PloS one*. 2014;9(8):e104852.
145. Huang H-B, Chen H-Y, Su P-H, Huang P-C, Sun C-W, Wang C-J, et al. Fetal and childhood exposure to phthalate diesters and cognitive function in children up to 12 years of age: Taiwanese maternal and infant cohort study. *PloS one*. 2015;10 (6):e0131910.
146. OMS. Obésité et surpoids 2020 [updated 20 août 2020]. Available from: 20 août 2020.
147. Swan SH. Environmental phthalate exposure in relation to reproductive outcomes and other health endpoints in humans. *Environmental research*. 2008;108 (2):177-84.
148. Stahlhut RW, van Wijngaarden E, Dye TD, Cook S, Swan SH. Concentrations of urinary phthalate metabolites are associated with increased waist circumference and insulin resistance in adult US males. *Environmental health perspectives*. 2007;115 (6):876-82.
149. Choi J, Eom J, Kim J, Lee S, Kim Y. Association between some endocrine-disrupting chemicals and childhood obesity in biological samples of young girls: a cross-sectional study. *Environmental toxicology and pharmacology*. 2014;38 (1):51-7.
150. Song Y, Hauser R, Hu F, Franke A, Liu S, Sun Q. Urinary concentrations of bisphenol A and phthalate metabolites and weight change: a prospective investigation in US women. *International journal of obesity*. 2014;38 (12):1532-7.
151. Zota AR, Phillips CA, Mitro SD. Recent fast food consumption and bisphenol A and phthalates exposures among the US population in NHANES, 2003–2010. *Environmental health perspectives*. 2016;124 (10):1521-8.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

152. Bullon P, Newman HN, Battino M. Obesity, diabetes mellitus, atherosclerosis and chronic periodontitis: a shared pathology via oxidative stress and mitochondrial dysfunction? *Periodontology* 2000. 2014;64 (1):139-53.
153. Braun JM. Early-life exposure to EDCs: role in childhood obesity and neurodevelopment. *Nature Reviews Endocrinology*. 2017;13 (3):161-73.
154. Bekö G, Weschler CJ, Langer S, Callesen M, Toftum J, Clausen G. Children's phthalate intakes and resultant cumulative exposures estimated from urine compared with estimates from dust ingestion, inhalation and dermal absorption in their homes and daycare centers. *PloS one*. 2013;8(4):e62442.
155. Bertelsen RJ, Carlsen KCL, Calafat AM, Hoppin JA, Håland G, Mowinckel P, et al. Urinary biomarkers for phthalates associated with asthma in Norwegian children. *Environmental health perspectives*. 2013;121(2):251-6.
156. Ejaredar M, Nyanza EC, Ten Eycke K, Dewey D. Phthalate exposure and childrens neurodevelopment: a systematic review. *Environmental research*. 2015;142:51-60.
157. Testa C, Nuti F, Hayek J, De Felice C, Chelli M, Rovero P, et al. Di-(2-ethylhexyl) phthalate and autism spectrum disorders. *ASN neuro*. 2012;4 (4):AN20120015.
158. Kim B-N, Cho S-C, Kim Y, Shin M-S, Yoo H-J, Kim J-W, et al. Phthalates exposure and attention-deficit/hyperactivity disorder in school-age children. *Biological psychiatry*. 2009;66 (10):958-63.
159. Chopra V, Harley K, Lahiff M, Eskenazi B. Association between phthalates and attention deficit disorder and learning disability in US children, 6–15 years. *Environmental research*. 2014;128:64-9.
160. Kim Y, Ha EH, Kim EJ, Park H, Ha M, Kim JH, et al. Prenatal exposure to phthalates and infant development at 6 months: prospective Mothers and Children's Environmental Health (MOCEH) study. *Environmental health perspectives*. 2011;119 (10):1495-500.
161. Lu X, Xu X, Lin Y, Zhang Y, Huo X. Phthalate exposure as a risk factor for hypertension. *Environmental Science and Pollution Research*. 2018;25:20550-61.
162. Lind PM, Lind L. Circulating levels of bisphenol A and phthalates are related to carotid atherosclerosis in the elderly. *Atherosclerosis*. 2011;218(1):207-13.
163. Trasande L, Attina TM. Association of exposure to di-2-ethylhexylphthalate replacements with increased blood pressure in children and adolescents. *Hypertension*. 2015;66 (2):301-8.
164. Jenkins R, Tackitt S, Gievers L, Iragorri S, Sage K, Cornwall T, et al. Phthalate-associated hypertension in premature infants: a prospective mechanistic cohort study. *Pediatric Nephrology*. 2019;34:1413-24.
165. Su T-C, Hwang J-S, Torng P-L, Wu C, Lin C-Y, Sung F-C. Phthalate exposure increases subclinical atherosclerosis in young population. *Environmental Pollution*. 2019;250:586-93.
166. Trasande L, Sathyanarayana S, Spanier AJ, Trachtman H, Attina TM, Urbina EM. Urinary phthalates are associated with higher blood pressure in childhood. *The Journal of pediatrics*. 2013;163 (3):747-53. e1.
167. López-Carrillo L, Hernández-Ramírez RU, Calafat AM, Torres-Sánchez L, Galván-Portillo M, Needham LL, et al. Exposure to phthalates and breast cancer risk in northern Mexico. *Environmental health perspectives*. 2010;118(4):539-44.
168. Brčić Karačonji I, Anić Jurica S, Lasić D, Jurica K. Facts about phthalate toxicity in humans and their occurrence in alcoholic beverages. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*. 2017;68(2):81-92.
169. Latini G, De Felice C, Presta G, Del Vecchio A, Paris I, Ruggieri F, et al. *In utero* exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate and duration of human pregnancy. *Environmental health perspectives*. 2003;111 (14):1783-5.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

170. Lin S, Ku H-Y, Su P-H, Chen J-W, Huang P-C, Angerer J, et al. Phthalate exposure in pregnant women and their children in central Taiwan. *Chemosphere*. 2011;82 (7):947-55.
171. Lin L-C, Wang S-L, Chang Y-C, Huang P-C, Cheng J-T, Su P-H, et al. Associations between maternal phthalate exposure and cord sex hormones in human infants. *Chemosphere*. 2011;83 (8):1192-9.
172. Marsee K, Woodruff TJ, Axelrad DA, Calafat AM, Swan SH. Estimated daily phthalate exposures in a population of mothers of male infants exhibiting reduced anogenital distance. *Environmental health perspectives*. 2006;114 (6):805-9.
173. 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.
174. Huang P-C, Kuo P-L, Chou Y-Y, Lin S-J, Lee C-C. Association between prenatal exposure to phthalates and the health of newborns. *Environment International*. 2009;35 (1):14-20.
175. Joensen UN, Frederiksen H, Jensen MB, Lauritsen MP, Olesen IA, Lassen TH, et al. Phthalate excretion pattern and testicular function: a study of 881 healthy Danish men. *Environmental health perspectives*. 2012;120 (10):1397-403.
176. Wittassek M, Angerer J, Kolossa-Gehring M, Schäfer SD, Klockenbusch W, Dobler L, et al. Fetal exposure to phthalates—a pilot study. *International journal of hygiene and environmental health*. 2009;212 (5):492-8.
177. Duty SM, Silva MJ, Barr DB, Brock JW, Ryan L, Chen Z, et al. Phthalate exposure and human semen parameters. *Epidemiology*. 2003;269-77.
178. Hauser R, Meeker JD, Duty S, Silva MJ, Calafat AM. Altered semen quality in relation to urinary concentrations of phthalate monoester and oxidative metabolites. *Epidemiology*. 2006;682-91.
179. Durmaz E, Ozmert EN, Erkekoğlu P, Giray B, Derman O, Hincal F, et al. Plasma phthalate levels in pubertal gynecomastia. *Pediatrics*. 2010;125 (1):e122-e9.
180. Xie C, Jin R, Zhao Y, Lin L, Li L, Chen J, et al. Paraoxonase 2 gene polymorphisms and prenatal phthalates' exposure in Chinese newborns. *Environmental Research*. 2015;140:354-9.
181. Araki A, Mitsui T, Miyashita C, Nakajima T, Naito H, Ito S, et al. Association between maternal exposure to di (2-ethylhexyl) phthalate and reproductive hormone levels in fetal blood: the Hokkaido study on environment and children's health. *PloS one*. 2014;9 (10):e109039.
182. 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.
183. Frederiksen H, Sørensen K, Mouritsen A, Aksglaede L, Hagen C, Petersen J, et al. High urinary phthalate concentration associated with delayed pubarche in girls. *International journal of andrology*. 2012;35 (3):216-26.
184. Upson K, Sathyanarayana S, De Roos AJ, Thompson ML, Scholes D, Dills R, et al. Phthalates and risk of endometriosis. *Environmental research*. 2013;126:91-7.
185. Hauser R, Gaskins AJ, Souter I, Smith KW, Dodge LE, Ehrlich S, et al. Urinary phthalate metabolite concentrations and reproductive outcomes among women undergoing in vitro fertilization: results from the EARTH study. *Environmental health perspectives*. 2016;124 (6):831-9.
186. Du Y-Y, Fang Y-L, Wang Y-X, Zeng Q, Guo N, Zhao H, et al. Follicular fluid and urinary concentrations of phthalate metabolites among infertile women and associations with in vitro fertilization parameters. *Reproductive toxicology*. 2016;61:142-50.
187. Réseau Environnement Santé. Les phthalates : Sources d'exposition et impregnation humaine. 148 rue du faubourg Saint-Denis 75010 PARIS. 2011.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

188. Hatch EE, Nelson JW, Qureshi MM, Weinberg J, Moore LL, Singer M, et al. Association of urinary phthalate metabolite concentrations with body mass index and waist circumference: a cross-sectional study of NHANES data, 1999–2002. *Environmental Health*. 2008;7(1):1-15.
189. Mieritz MG, Frederiksen H, Sørensen K, Aksglaede L, Mouritsen A, Hagen CP, et al. Urinary phthalate excretion in 555 healthy Danish boys with and without pubertal gynaecomastia. *International journal of andrology*. 2012;35 (3):227-35.
190. Balalian AA, Whyatt RM, Liu X, Insel BJ, Rauh VA, Herbstman J, et al. Prenatal and childhood exposure to phthalates and motor skills at age 11 years. *Environmental research*. 2019;171:416-27.
191. Garí M, Koch HM, Pálmke C, Jankowska A, Wesołowska E, Hanke W, et al. Determinants of phthalate exposure and risk assessment in children from Poland. *Environment international*. 2019;127:742-53.
192. Kim K-N, Kim HY, Lim Y-H, Shin CH, Kim JI, Kim B-N, et al. Prenatal and early childhood phthalate exposures and thyroid function among school-age children. *Environment International*. 2020;141:105782.
193. Chance GW, Harmsen E. Children are Different: Environmental Contaminants and Children—s Health. *Canadian Journal of Public Health*. 1998;89(1):S10-S5.
194. Becker M, Edwards S, Massey RI. Toxic chemicals in toys and children’s products: limitations of current responses and recommendations for government and industry. *Environmental science & technology*. 2010;44 (21):7986-91.
195. Firestone M, Moya J, Cohen-Hubal E, Zartarian V, Xue J. Identifying childhood age groups for exposure assessments and monitoring. *Risk Analysis: An International Journal*. 2007;27(3):701-14.
196. Smith SA, Norris B. Reducing the risk of choking hazards: mouthing behaviour of children aged 1 month to 5 years. *Injury control and safety promotion*. 2003;10 (3):145-54.
197. Norris DB, Smith S, Trade Do, Industry LC, Directorate CP. Research Into the Mouthing Behaviour of Children Up to 5 Years Old: Executive Summary: Great Britain, Consumer and Competition Policy Directorate; 2002.
198. Simoneau C, Geiss H, Roncari A, Zocchi P, Hannaert P. Validation of methodologies for the release of di-isononylphthalate (DINP) in saliva simulant from toys. European Commission, DG-Joint Research Centre, Food Products Unit. Institute for Health and Consumer Protection, Ispra, Italy. 2001.
199. EPA. Indoor exposure product testing protocols version 2.0. Office of Chemical Safety and Pollution Prevention. Washington DC: 2017 Contract No.: 740-S1-7002.
200. Beamer P, Key ME, Ferguson AC, Canales RA, Auyeung W, Leckie JO. Quantified activity pattern data from 6 to 27-month-old farmworker children for use in exposure assessment. *Environmental research*. 2008;108 (2):239-46.
201. Schettler T. Human exposure to phthalates via consumer products. *International journal of andrology*. 2006;29 (1):134-9.
202. Eljezi TB. Synthèse des métabolites des plastifiants présents dans les dispositifs médicaux pour évaluation de leur cytotoxicité et de l'exposition des patients en chirurgie cardiaque: Université Clermont Auvergne [2017-2020]; 2019.
203. Bui TT, Giovanoulis G, Cousins AP, Magnér J, Cousins IT, de Wit CA. Human exposure, hazard and risk of alternative plasticizers to phthalate esters. *Science of the total environment*. 2016;541:451-67.
204. Vermeire T. Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks. 2015.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

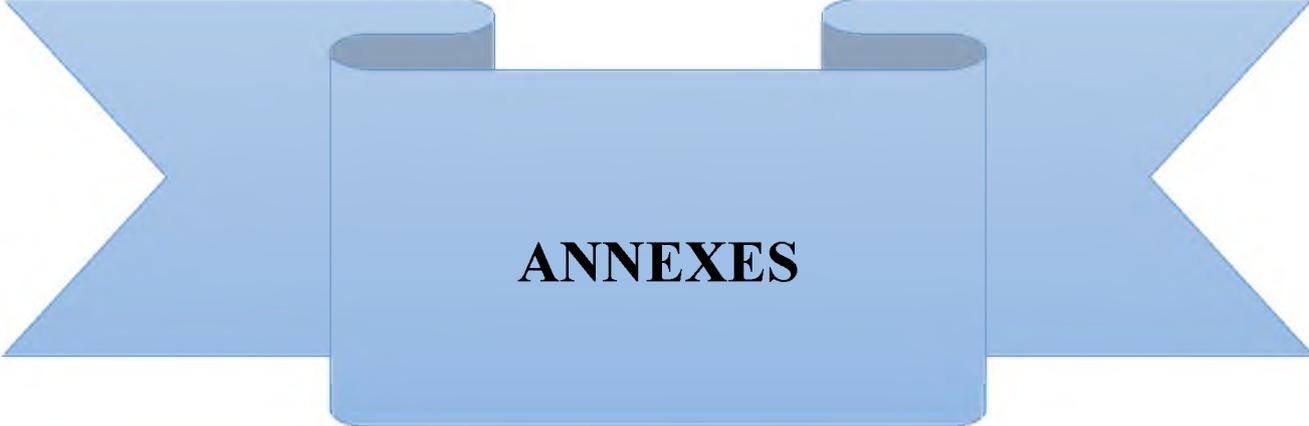
205. ANSES. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'élaboration d'une valeur toxicologique de référence chronique par ingestion pour le phtalate de bis(2-éthylhexyle) (DEHP). 2012.
206. Haji Harunarashid NZI, Lim LH, Harunsani MH. Phthalate sample preparation methods and analysis in food and food packaging: a review. *Food Analytical Methods*. 2017;10:3790-814.
207. Reid AM, Brougham CA, Fogarty AM, Roche JJ. An investigation into possible sources of phthalate contamination in the environmental analytical laboratory. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry*. 2007;87(2):125-33.
208. Tankiewicz M, Olkowska E, Berg A, Wolska L. Advancement in determination of phthalate metabolites by gas chromatography eliminating derivatization step. *Frontiers in Chemistry*. 2020;7:928.
209. Tienpont B. Determination of Phthalates in Environmental, Food and Biomatrices-An Analytical Challenge. Department of Organic Chemistry-Faculty of Science-Ghent University, Pg. 2004;5.
210. Guo Y, Kannan K. Challenges encountered in the analysis of phthalate esters in foodstuffs and other biological matrices. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2012;404:2539-54.
211. Fernández-González V, Moscoso-Pérez C, Muniategui-Lorenzo S, López-Mahía P, Prada-Rodríguez D. Reliable, rapid and simple method for the analysis of phthalates in sediments by ultrasonic solvent extraction followed by head space-solid phase microextraction gas chromatography mass spectrometry determination. *Talanta*. 2017;162:648-53.
212. Panio A, Corsarini SF, Bruno A, Lasagni M, Labra M, Saliu F. Determination of phthalates in fish fillets by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS): a comparison of direct immersion solid phase microextraction (SPME) versus ultrasonic assisted solvent extraction (UASE). *Chemosphere*. 2020;255:127034.
213. Korkmaz SD, Küplülü Ö. Determination of phthalates in some milk products by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2019;66(3):230-6.
214. Hu A, Qiu M, Liu H, Xu Y, Tao Y, Yang G, et al. Simultaneous determination of phthalate diesters and monoesters in soil using accelerated solvent extraction and ultra-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2020;1626:461347.
215. ONS. Premier recensement économique 2011. Série E : Statistiques Economiques N° 67. Algérie: Office national des statistiques 2011.
216. Bezzaoucha A. Précis d'épidémiologie. Office des Publications Universitaires 2016–Alger. 2016.
217. Faix O. Fourier transform infrared spectroscopy. *Methods in lignin chemistry*: Springer; 1992. p. 83-109.
218. Stuart BH. *Polymer analysis*: John Wiley & Sons; 2002.
219. Ramer G, Lendl B. Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Encyclopedia of analytical chemistry: applications, theory and instrumentation*. 2006.
220. ICC. Le test Beilstein – Une méthode simple pour déceler la présence de chlore dans les matériaux organiques et polymériques et quelques exemples de matériaux testés Ottawa Canada: Institut canadien de conservation; 1993.
221. ISO10640. Plastiques-méthodologie d'évaluation du photovieillissement des polymères par spectroscopie IRTF et UV/visible. 2011.
222. *Chemical Dictionary, Spectrophotometric Analysis*. Japan: Morikita Publishing Co., Ltd. *Infrared Spectra of Polyvinyl Chloride*.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

223. Analyse détaillée de sensibilité et spécificité
2021. Available from: <https://www.xlstat.com/fr/solutions/fonctionnalites/analyse-detaillee-de-sensibilite-et-specificite>.
224. Commission CPS. Test Method: CPSC-CH-C1001-09.3 Standard Operating Procedure for Determination of Phthalates Apr. 1, 2010. 2010.
225. Caporal-Gautier J. Guide de validation analytique, Rapport d'une commission SFSTP. STP Pharma pratiques. 1992;23:205.
226. Hubert Ph, Nguyen-Huu J, Boulanger B, Chapuzet E, Chiap P, Cohen N, et al. Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures A SFSTP proposal—part I. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2004 36:579–86.
227. Hubert Ph, Nguyen-Huu J, Boulanger B, Chapuzet E, Chiap P, et al. CNe. Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures A SFSTP proposal – Part II. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2007 45:70–81.
228. Hubert Ph, Nguyen-Huu J, Boulanger B, Chapuzet E, Cohen N, et al. CPe. Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures A SFSTP proposal—Part III. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2007.;45 82–96.
229. Earls A, Axford I, Braybrook JHI. Gas chromatography–mass spectrometry determination of the migration of phthalate plasticisers from polyvinyl chloride toys and childcare articles. *Journal of Chromatography A*. 2003;983 (1-2):237-46.
230. Danish E. Determination of migration rates for certain phthalates. Survey of chemical substances in consumer products No. 149. 2016.
231. TUNAC. Annexe technique-ISO/IEC 17025 :2017- Numéro d'accréditation : 2-0018. TTS.
232. Simoneau C, Rijk R. Standard Operation Procedure for the Determination of Release of Di-isonylphthalate (DINP) in Saliva Simulant from Toys and Childcare Articles Using a Head Over Heels Dynamic Agitation Device: European Commission, Joint Research Centre, Institute for Health and Consumer Protection. 2001.
233. Simoneau C, Hannaert P, Sarigiannis D. Effect of the nature and concentration of phthalates on their migration from PVC materials under dynamic simulated conditions of mouthing. Luxembourg JRC Joint Research Centre, 2009.
234. Özer ET, Güçer Ş. Determination of some phthalate acid esters in artificial saliva by gas chromatography–mass spectrometry after activated carbon enrichment. *Talanta*. 2011;84(2):362-7.
235. TNO. Migration of phthalate plasticizers from soft PVC toys and childcare articles. Netherlands: TNO Nutrition and Food Research, 2001 Contract No.: 51566/01.01.
236. Organization WH. Comités d'éthique de la recherche: notions de base pour le renforcement des capacités. 2009.
237. Export value of traditional toys from China between 2012 and 2022 [Internet]. 2023 [cited 07/11/2023].
238. ONS. Enquête Nationale sur les Dépenses de Consommation et le Niveau de Vie des Ménages 2011 - Vacances et déplacements Algérie 2011.
239. Njati SY, Maguta MM. Lead-based paints and children's PVC toys are potential sources of domestic lead poisoning—A review. *Environmental pollution*. 2019;249:1091-105.
240. Stringer R, Labunska I, Santillo D, Johnston P, Siddorn J, Stephenson A. Concentrations of phthalate esters and identification of other additives in PVC children's toys. *Environmental Science and Pollution Research*. 2000;7 (1):27-36.
241. Morrison WM. Health and safety concerns Over US imports of Chinese products: an overview. 2007.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

242. Akbbik M, Turksoy VA, Koçoğlu S. Simultaneous quantitative detection of 10 phthalates in PVC children's toys by HPLC-PDA. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 2020;30(1):33-8.
243. Kim DY, Chun SH, Jung Y, Mohamed D, Kim HS, Kang DY, et al. Phthalate Plasticizers in Children's Products and Estimation of Exposure: Importance of Migration Rate. *International journal of environmental research and public health*. 2020;17 (22).
244. Chen S. Migration of DINP from polyvinyl chloride (PVC) children's products. The risk of chronic toxicity associated with exposure to diisononyl phthalate (DINP) in children's products. 1998.
245. Authority EFS. Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) related to Bis (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) for use in food contact materials. *EFSA Journal*. 2005;3 (9):243.
246. Wittassek M, Wiesmüller GA, Koch HM, Eckard R, Dobler L, Müller J, et al. Internal phthalate exposure over the last two decades—a retrospective human biomonitoring study. *International journal of hygiene and environmental health*. 2007;210 (3-4):319-33.
247. Enke U, Schleussner E, Pälme C, Seyfarth L, Koch HM. Phthalate exposure in pregnant women and newborns—The urinary metabolite excretion pattern differs distinctly. *International journal of hygiene and environmental health*. 2013;216 (6):735-42.
248. Calafat AM, Slakman AR, Silva MJ, Herbert AR, Needham LL. Automated solid phase extraction and quantitative analysis of human milk for 13 phthalate metabolites. *Journal of Chromatography B*. 2004;805(1):49-56.
249. Chronic Hazard Advisory Panel on Phthalates and Phthalate Alternatives Final Report (2014).
250. NICNAS. Priority Existing Chemical Assessment Report No.35 Diisononyl phthalate 2012 [23/11/2023].
251. Dewalque L, Charlier C, Pirard C. Estimated daily intake and cumulative risk assessment of phthalate diesters in a Belgian general population. *Toxicology letters*. 2014;231 (2):161-8.

A blue ribbon graphic with a central rectangular section. The word "ANNEXES" is written in bold, black, uppercase letters in the center of this section. The ribbon has a 3D effect with a darker blue shadow on the top and bottom edges.

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1

ANNEXE I du Décret exécutif n° 97-494 du 21 Chaabane 1418 correspondant au 21 décembre 1997 relatif à la prévention des risques résultant de l'usage des jouets

Les produits qui ne sont pas considérés comme jouets au sens du présent décret selon l'annexe I du décret exécutif n° 97-494 du 21 Chaabane 1418 sont :

1. Modèles réduits, construits à l'échelle en détails pour collectionneurs adultes ;
2. Equipements destinés à être utilisés collectivement sur des terrains de jeux ;
3. Equipements sportifs ;
4. Equipements nautiques destinés à être utilisés en eau profonde ;
5. Jouets « professionnels » installés dans des endroits publics (parcs, *etc.*) ;
6. Puzzles de plus de 500 pièces avec ou sans modèle, destinés aux spécialistes ;
7. Armes à air comprimé ;
8. Feux d'artifice ;
9. Frondes et lance-pierres ;
10. Jeux de fléchettes à pointes métalliques ;
11. Fours électriques, fers à repasser ou autre produits fonctionnels alimentés par une tension nominale supérieure à 24volts ;
12. Produit comprenant des éléments chauffants destinés à être utilisés sous surveillance d'un adulte dans un cadre pédagogique ;
13. Véhicules à moteur à combustion ;
14. Jouets machine à vapeur ;
15. Bicyclettes conçues à des fins de sport ou à des déplacements sur la voie publique ;
16. Sucettes de puériculture ;
17. Imitations fidèles d'armes à feu réelles [57].

ANNEXES

Annexe 2

ANNEXE I de la directive 2009/48/CE du parlement européen et du conseil du 18 juin 2009 relative à la sécurité des jouets

La liste de produits qui ne sont pas considérés comme des jouets au sens de la présente directive énumérés à l'annexe I sont :

1. Objets décoratifs servant aux fêtes et célébrations ;
2. Produits destinés à des collectionneurs, à condition que le produit ou son emballage indique de façon visible et lisible qu'il est destiné aux collectionneurs âgés d'au moins 14 ans.

Exemples de produits appartenant à cette catégorie :

- a) Modèles réduits à l'identique, construits à l'échelle en détail ;
 - b) Coffrets d'assemblage de modèles réduits construits à l'échelle en détail ;
 - c) Poupées folkloriques et décoratives, et autres articles similaires ;
 - d) Répliques historiques de jouets ; et
 - e) Reproductions d'armes à feu réelles.
3. Équipements sportifs, y compris les patins à roulettes, les patins en ligne et les planches à roulettes destinés aux enfants pesant plus de 20kg ;
 4. Les bicyclettes ayant une hauteur de selle maximale supérieure à 435mm, distance mesurée à la verticale entre le sol et la surface supérieure de la selle, cette dernière se trouvant en position horizontale et réglée sur la position la plus basse ;
 5. Trottinettes et autres moyens de transport conçus pour le sport ou qui sont destinés à être utilisés à des fins de déplacement sur les voies et les sentiers publics ;
 6. Véhicules électriques destinés à être utilisés pour les déplacements sur les voies et les sentiers publics, ou sur leurs trottoirs ;
 7. Équipements nautiques destinés à être utilisés dans des eaux profondes et dispositifs pour apprendre à nager destinés aux enfants, tels que les sièges de natation et les aides à la natation ;
 8. Puzzles de plus de 500 pièces ;
 9. Armes et pistolets à air comprimé, à l'exception des pistolets à eau et revolvers à eau, et arcs à flèches d'une longueur supérieure à 120cm ;
 10. Feux d'artifice, y compris amorces à percussion qui ne sont pas spécialement conçues pour des jouets ;
 11. Produits et jeux comprenant des projectiles à pointe acérée, tels que les jeux de fléchettes à pointe métallique ;

ANNEXES

12. Produits éducatifs fonctionnels, tels que les fours électriques, fers électriques et autres produits fonctionnels alimentés par une tension nominale supérieure à 24volts et vendus exclusivement pour être employés à des fins éducatives, sous la surveillance d'un adulte ;
13. Produits destinés à être utilisés dans les écoles à des fins d'enseignement et dans d'autres contextes pédagogiques, sous la surveillance d'un instructeur adulte, tels que les équipements scientifiques ;
14. Équipements électroniques, tels que les ordinateurs personnels et les consoles de jeu, servant à utiliser des logiciels interactifs et les périphériques associés, à moins que ces équipements électroniques ou les périphériques associés ne soient spécifiquement conçus pour les enfants et destinés à ceux-ci, et aient une valeur ludique, tels que les ordinateurs personnels, claviers, manettes de jeu ou volants spécialement conçus ;
15. Logiciels interactifs destinés aux loisirs et aux divertissements, tels que les jeux électroniques, et leurs supports de mémoire, tels que les disques compacts ;
16. Sucettes de puériculture ;
17. Luminaires attrayants pour les enfants ;
18. Transformateurs électriques pour jouets ;
19. Accessoires de mode pour enfants, non destinés à être utilisés à des fins de jeu [58].

Annexe 3

ENQUETE AUPRES DES PARENTS

Le questionnaire est totalement anonyme. Les résultats seront utilisés dans un cadre purement pédagogique. Nous vous remercions du temps que vous consacrerez à répondre à ces questions.

Région : N° questionnaire :

1- Combien d'enfants avez-vous < 14 ans ?

Garçon :

Fille :

2- Quel est l'âge de vos enfants (Moins de 14 ans) ?

< 3 ans

3-6 ans

> 6 ans

CARACTERISTIQUES SOCIO-ECONOMIQUES DES PARENTS

3- Profession :

4- Combien est votre revenu mensuel ?

< 20000 DA

20000-50000 DA

>50000 DA

5- Quel est votre niveau d'étude ?

Primaire

Moyen

Lycée

Universitaire

TYPE ET QUALITE DES JOUETS ACHETES

6- Quels types de jouets achetez-vous le plus pour vos enfants ?

Plastique

Textile

Métal

Bois

Autre (à préciser) :

7- Quels sont les jouets préférés de vos enfants ?

Poupées

Legos

Animaux

Véhicules de transport

Ballons

Jouets de bain

Pâte à modeler

Autres (à préciser) :

8- D'où achetez-vous ces jouets ?

En magasin spécialisé en jouets

Par internet

Au marché

Autre (à préciser) :

9- Combien sont vos dépenses mensuelles pour les jouets ?

10- Le prix des jouets les plus achetés ?

<300 DA 300-1000 DA >1000 DA

11- Quels sont les critères à prendre en considération lors de l'achat d'un jouet ?

Le prix La sécurité La durabilité

Le plaisir qu'apporte le jouet L'intérêt éducatif

Autre (à préciser) :

12- Vérifiez-vous l'âge à lequel le jouet est destiné ?

Oui Non

**EFFETS DES JOUETS SUR LA SANTE ET LE NIVEAU DE SENSIBILISATION
AUX PRODUITS CHIMIQUES DANGEREUX DANS LES JOUETS**

13- D'après vous l'utilisation d'un jouet peut présenter un risque toxique pour l'enfant ?

Oui Non

14- Connaissez-vous des produits chimiques dangereux qui pourraient exister dans les jouets ?.....

15- Votre enfant a présenté déjà un effet toxique suite à l'utilisation des jouets ?

Oui Non

16- Si oui, parmi ces symptômes, lequel (lesquels) avez-vous remarqué ?

Douleurs abdominales Toux Allergies

Vomissements Comportement paresseux Irritation de la peau

Irritation des yeux Maux de tête Excitation et hyper activité

Autre (à préciser) :

17- Scénario d'exposition à l'origine de ces symptômes :

Succion Ingestion Inhalation Contact cutané Contact oculaire

ANNEXE 4



Figure 99. Jouets achetés de la wilaya de Bejaia.



Figure 100. Jouets achetés de la wilaya d'Alger.



Figure 101. Jouets achetés de la wilaya de Sétif.



Figure 102. Jouets achetés de la wilaya d'Annaba.



Figure 103. Jouets achetés de la wilaya de Constantine.



Figure 104. Jouets achetés de la wilaya d'Oran.



Certificat d'accréditation *n° 2-0018*

Le Conseil National d'Accréditation atteste que :
Laboratoire d'essais de la Société
« TOTAL TESTING SERVICE »
-TTS-

Adresse : BP53 Z.I Technopole Menzel Harb 5036, Monastir

a les compétences requises pour effectuer les essais décrits dans l'annexe joint au présent certificat, conformément aux exigences de la norme tunisienne NT 110.200 (2017), de la norme internationale ISO/IEC 17025 (2017) et des critères d'accréditation du TUNAC.

Date d'effet : 29/11/2019

Date de fin de validité : 28/11/2024

Tunis, 29 NOV. 2019

Nouvelle ESTIM 30. AOÛT. 2022



Le Directeur Général
du Conseil National d'Accréditation

Yasmine WALI

TUNAC est signataire de l'accord de reconnaissance bilatérale avec l'European Co-operation for Accreditation EA-BLA
TUNAC est signataire de l'accord de reconnaissance mutuelle avec l'International Laboratory Accreditation Cooperation ILAC-MRA

Titre de l'Étude : Evaluation de l'exposition des enfants de moins de 36 mois aux phtalates (di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) et di-*iso*-nonyl phthalate (DINP)) *via* les jouets en plastique type polychlorure de vinyle souple (PVC) commercialisés dans la région du Nord Algérien.

Cher(e) participant(e),

Nous vous invitons à participer à une étude de recherche scientifique portant sur l'évaluation de l'exposition des enfants de moins de 36 mois aux phtalates (DEHP) et (DINP) *via* les jouets en plastique type PVC commercialisés dans la région du Nord Algérien, menée par D^r YAMOUN. A et supervisée par P^r DJAFER. R et P^r BENBOUDIAF S.

Avant de prendre une décision éclairée concernant votre participation, nous vous invitons à lire attentivement les informations ci-dessous. N'hésitez pas à poser toutes les questions que vous pourriez avoir avant de prendre votre décision.

Objectif de l'étude : L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'exposition des enfants de moins de 36 mois aux DEHP et DINP *via* les jouets en plastique type PVC commercialisés dans la région du Nord Algérien. Les conclusions de cette étude pourraient apporter une contribution substantielle à l'expansion du corpus de connaissances médicales, à l'amélioration des normes appliquées aux jouets disponibles sur le marché algérien, ainsi qu'à l'atténuation des risques de maladies induites par l'exposition aux phtalates.

Procédure de l'étude : Au cours de votre participation dans cette étude, vous serez exposé(e) à un échantillon découpé à partir d'un jouet, d'une superficie de 10 cm². Vous serez invité(e) à l'incorporer dans votre cavité buccale et à l'entreprendre en le suçant ou en le mâchant doucement pendant une période de 15 minutes. Pendant cette période, l'entièreté de la salive produite sera collectée dans un flacon approprié. Cette procédure sera répétée à quatre reprises, chacune durant une séance de 15 minutes, suivie d'une pause de 5 minutes après chaque séance.

Risques et bénéfices : Votre participation ne présente aucun risque potentiel, car aucune ingestion n'est envisagée.

Votre engagement dans cette étude pourrait jouer un rôle dans l'élargissement des connaissances médicales, l'optimisation des réglementations relatives aux jouets proposés sur le marché algérien, et la réduction des probabilités de maladies associées à l'exposition aux phtalates.

Confidentialité : Vos informations personnelles seront traitées de manière confidentielle. Les données collectées seront utilisées uniquement à des fins de recherche et seront anonymisées dans les rapports publiés.

Participation volontaire : Votre participation à cette étude est entièrement volontaire. Vous avez le droit de refuser de participer ou de retirer votre consentement à tout moment sans subir de conséquences négatives.

Contact pour les questions : Si vous avez des questions concernant l'étude, vous pouvez contacter D^r YAMOUN. A (yamounassia@gmail.com).

En signant ce formulaire, vous indiquez que vous avez lu et compris les informations fournies ci-dessus et que vous consentez à participer à l'étude.

Signature du participant : _____ Date : _____

Merci d'avoir pris le temps de considérer votre participation à cette étude.

**Département de Pharmacie-Faculté de Médecine de SETIF- YAMOUN A –
yamounassia@gmail.com**

Evaluation de l'exposition des enfants de moins de 36 mois aux phtalates (di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) et di-iso-nonyl phthalate (DINP)) via les jouets en plastique type polychlorure de vinyle souple (PVC) commercialisés dans la région du Nord Algérien

Résumé

Les enfants âgés de moins de 36 mois, constituent une population spécifique, particulièrement vulnérable aux risques toxiques liés aux phtalates. L'objectif principal de cette étude était d'évaluer les niveaux d'exposition des enfants de moins de 36 mois au DEHP et au DINP via les jouets en PVC neufs commercialisés dans la région du Nord algérien (Sétif, Constantine, Annaba, Bejaia, Alger et Oran). L'étude visait également à évaluer les niveaux de ces phtalates dans ces jouets. Il s'agit d'une étude transversale expérimentale qui s'est portée sur 271 jouets en plastique souple. La fréquence relative des jouets en PVC souple était estimée à 55%. Le DEHP était plus fréquemment quantifié dans les jouets en PVC par rapport au DINP. Notre étude a mis en évidence des concentrations de DEHP et de DINP très variables. La concentration moyenne de DEHP était de $7,63 \pm 9,80\%$, et la concentration moyenne de DINP s'établissait à $4,69 \pm 10,14\%$. Nous avons conclu que 75,2% des jouets en PVC analysés, étaient non conformes par rapport à leur teneur en phtalates (DEHP et/ou DINP). Le DEHP était l'origine de la non-conformité de 65,8% des jouets en PVC. Le pourcentage massique le plus élevé de DEHP était plus de 362 fois supérieure à la limite autorisée dans de nombreux pays (0,1%). La concentration de DINP dépassait cette limite dans 29,5% des jouets en PVC. Le pourcentage massique le plus élevé était plus de 354 fois supérieure à la limite autorisée.

Le taux de migration moyen de DEHP et de DINP *in vitro* était de $1,54 \pm 0,92 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ et de $1,90 \pm 1,34 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ respectivement. 13 jouets ont donné un taux de migration supérieur à la valeur guide fixée, et aucune jouet n'a donné un taux de migration de DINP supérieur à la valeur guide.

Nous avons constaté une forte corrélation, statistiquement significative, entre le taux de migration *in vitro* du DEHP et la teneur des jouets en DEHP (p/p). Cependant, nous avons observé une corrélation moyenne, statistiquement non significative, entre le taux de migration de DINP *in vitro* et la teneur du jouet en DINP (p/p). Le taux moyen de migration *in vivo* de DEHP et de DINP était de $0,68 \pm 0,33 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, et de $0,97 \pm 0,40 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ respectivement. Comme dans le test de migration salivaire *in vitro*, la migration *in vivo* n'a été observée que pour les teneurs élevées en phtalates.

Nous avons constaté une faible corrélation, statistiquement non significative, entre le taux de migration de DEHP *in vivo* et la teneur en DEHP (p/p). La corrélation entre la teneur de jouet en DINP et la migration vers la salive des adultes volontaires était statistiquement non significative également.

Nous avons constaté une corrélation moyenne, statistiquement non significative, entre le taux de migration de DEHP *in vitro* et *in vivo*. La corrélation entre le taux de migration de DINP *in vitro* et *in vivo* a montré une faible corrélation, statistiquement non significative.

La DJE à ces deux phtalates chez les enfants moins de 36 mois était significativement inférieure à la dose journalière tolérable.

Notre étude a permis de conclure que l'exposition isolée au DINP ou au DEHP, lors de la mise en bouche de jouets en plastique souple n'est pas susceptible de présenter un risque pour la santé des enfants moins de 36 mois dans le contexte d'une exposition chronique ($HI < 1$).

Mots clé : DEHP ; DINP ; Jouets ; PVC ; DJE ; Risque toxique ; Enfants moins de 36 mois.

Assessment of exposure of children under 36 months to phthalates (di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) and di-iso-nonyl phthalate (DINP)) through soft polyvinyl chloride (PVC) toys marketed in the Northern Algerian region

Abstract

Children under 36 months old constitute a specific population, particularly vulnerable to toxic risks associated with phthalates. The main objective of this study was to assess the exposure levels of children under 36 months to DEHP and DINP through new PVC toys marketed in the Northern Algerian region (Setif, Constantine, Annaba, Bejaia, Algiers, and Oran). The study also aimed to evaluate the levels of these phthalates in these toys. This experimental cross-sectional study focused on 271 soft plastic toys. The relative frequency of soft PVC toys was estimated at 55%. DEHP was more frequently quantified in PVC toys compared to DINP. Our study revealed highly variable concentrations of DEHP and DINP. The average concentration of DEHP was $7.63 \pm 9.80\%$, and the average concentration of DINP was $4.69 \pm 10.14\%$.

We concluded that 75.2% of analyzed PVC toys were non-compliant regarding their phthalate content (DEHP and/or DINP). DEHP was the cause of non-compliance in 65.8% of PVC toys. The highest mass percentage of DEHP was more than 362 times higher than the allowed limit in many countries (0.1%). The concentration of DINP exceeded this limit in 29.5% of PVC toys, with the highest mass percentage being more than 354 times higher than the allowed limit.

The average *in vitro* migration rate of DEHP and DINP was $1.54 \pm 0.92 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ and $1.90 \pm 1.34 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, respectively. Thirteen toys had a migration rate higher than the set guide value by SCTEE, and no toy had a DINP migration rate higher than the guide value.

We observed a strong, statistically significant correlation between the *in vitro* migration rate of DEHP and the DEHP content of toys (w/w). However, we observed a moderate, statistically non-significant correlation between the *in vitro* migration rate of DINP and the DINP content of the toy (w/w). The average *in vivo* migration rate of DEHP and DINP was $0.68 \pm 0.33 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ and $0.97 \pm 0.40 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$, respectively. As in the *in vitro* saliva migration test, *in vivo* migration was only observed for high phthalate contents.

We found a weak, statistically non-significant correlation between the *in vivo* migration rate of DEHP and the DEHP content (w/w). The correlation between the DINP toy content and saliva migration in adult volunteers was also statistically non-significant.

We observed a moderate, statistically non-significant correlation between the *in vitro* and *in vivo* DEHP migration rates. The correlation between the *in vitro* and *in vivo* DINP migration rates showed a weak, statistically non-significant correlation.

The Estimated Daily Intake (EDI) of these two phthalates in children under 36 months was significantly lower than the tolerable daily intake.

Our study concluded that isolated exposure to DINP or DEHP when mouthing soft plastic toys is not likely to pose a health risk for children under 36 months in the context of chronic exposure ($HI < 1$).

Keywords: DEHP; DINP; Toys; PVC; EDI; Toxic risk; Children under 36 months.

تقييم تعرض الأطفال دون سن 36 شهراً للفثالات (ثنائي-2-إيثيل هيكسيل فثالات (DEHP) وثنائي إيزونونيل فثالات (DINP)) من خلال ألعاب البلاستيك اللينة من نوع البولي كلوريد فينيل المسوقة في منطقة شمال الجزائر

المخلص

يشكل الأطفال الذين تقل أعمارهم عن 36 شهراً مجموعة محددة، وهم معرضون بشكل خاص للمخاطر السامة المرتبطة بالفثالات. الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تقييم مستويات تعرض الأطفال دون سن 36 شهراً لـ DEHP و DINP من خلال ألعاب PVC الجديدة المسوقة في منطقة شمال الجزائر (سبطين، قسنطينة، عنابة، بجاية، الجزائر العاصمة، وهران). كما هدفت الدراسة إلى تقييم مستويات هذه الفثالات في الألعاب. كانت هذه دراسة تجريبية ركزت على 271 لعبة بلاستيكية ناعمة. تم تقدير التكرار النسبي للعبة PVC اللينة بنسبة 55%. تم قياس كمية DEHP بشكل متكرر في الألعاب البلاستيكية مقارنة بـ DINP. كشفت دراستنا عن تراكيز شديدة التباين من DEHP و DINP. كان متوسط تركيز $9.80 \pm 7.63\%$ DEHP (وزن / وزن)، وكان متوسط تركيز DINP $10.14 \pm 4.69\%$ (وزن / وزن). لقد خالصنا إلى أن 75.2% من ألعاب PVC التي تم تحليلها كانت غير متوافقة فيما يتعلق بمحتوى الفثالات (DEHP و/أو DINP) وكان DEHP هو سبب عدم الامتثال في 65.8% من الألعاب البلاستيكية. كانت أعلى نسبة كتلة لـ DEHP أعلى بكثير من الحد المسموح به في العديد من البلدان (0.1%). وقد تجاوز تركيز DINP هذا الحد في 29.5% من ألعاب PVC، وكانت أعلى نسبة كتلة أعلى من الحد المسموح به بأكثر من 354 مرة. كان متوسط معدل الهجرة في المختبر *in vitro* لـ DEHP و DINP $1.54 \pm 0.92 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ و $1.90 \pm 1.34 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ على التوالي. كان 13 لعبة من ألعاب PVC لديها معدل هجرة أعلى من القيمة الإرشادية المحددة من طرف SCTEE، ولم يكن لأي لعبة معدل هجرة أعلى من القيمة الإرشادية. لاحظنا وجود علاقة قوية ذات دلالة إحصائية بين معدل الهجرة في المختبر لـ DEHP ومحتوى DEHP للألعاب (وزن / وزن)، كما لاحظنا وجود علاقة متوسطة دون دلالة إحصائية بين معدل الهجرة في المختبر لـ DINP ومحتوى DINP للعبة (وزن / وزن). كان متوسط معدل الهجرة في الجسم الحي *in vivo* لـ DEHP و DINP $0.68 \pm 0.33 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ و $0.97 \pm 0.40 \mu\text{g}/10\text{cm}^2/\text{min}$ على التوالي. كما هو الحال في اختبار هجرة اللعب في المختبر، تمت ملاحظة الهجرة *in vivo* فقط بالنسبة للمحتويات العالية من الفثالات. لقد وجدنا علاقة ضعيفة ودون دلالة إحصائية بين معدل الهجرة في المختبر وفي الجسم الحي لـ DEHP ومحتوى اللعب من DEHP. كانت العلاقة بين محتوى اللعب من DINP والهجرة نحو اللعب لدى المتطوعين البالغين أيضاً دون دلالة إحصائية. لاحظنا وجود علاقة متوسطة دون دلالة إحصائية بين معدلات الهجرة في المختبر وفي الجسم الحي لمعدلات هجرة DINP في المختبر وفي الجسم الحي وجود علاقة ضعيفة دون دلالة إحصائية. كان جرعة التعرض اليومية (EDI) لـ DEHP و DINP لدى الأطفال دون سن 36 شهراً أقل بكثير من المدخول اليومي المسموح به والمقدر بـ 50 مغم / كغم يومياً على التوالي. خلصت دراستنا إلى أن التعرض المعزول لـ DINP أو DEHP من خلال الألعاب البلاستيكية اللينة من غير المرجح أن يشكل خطراً على صحة الأطفال دون سن 36 شهراً في سياق التعرض المزمن ($HI < 1$).

الكلمات الرئيسية : DEHP ; DINP ; ألعاب الأطفال ; بولي كلوريد الفينيل ; جرعة التعرض اليومية ; المخاطر السامة للأطفال أقل من 36 شهراً.