

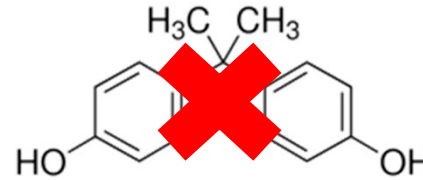
Analyse par chromatographie liquide d'un mélange de bisphénols appliquée à une étude toxicocinétique : Y a-t-il un risque de substitution regrettable du BPA ?

Clémence GÉLY, Nicole PICARD-HAGEN, Marlène LACROIX

Contexte



Bisphenol A (BPA)

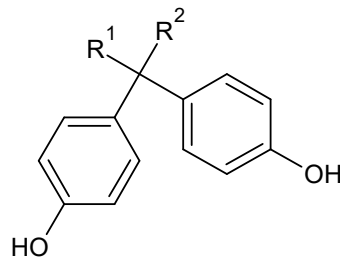


Perturbateur endocrinien
Fonction de reproduction
et environnement

Polycarbonate / résine époxy

Interdit (France, 2015)

Limite de migration fixée à 0.05 mg/kg (Suisse, 2019)



Structures analogues



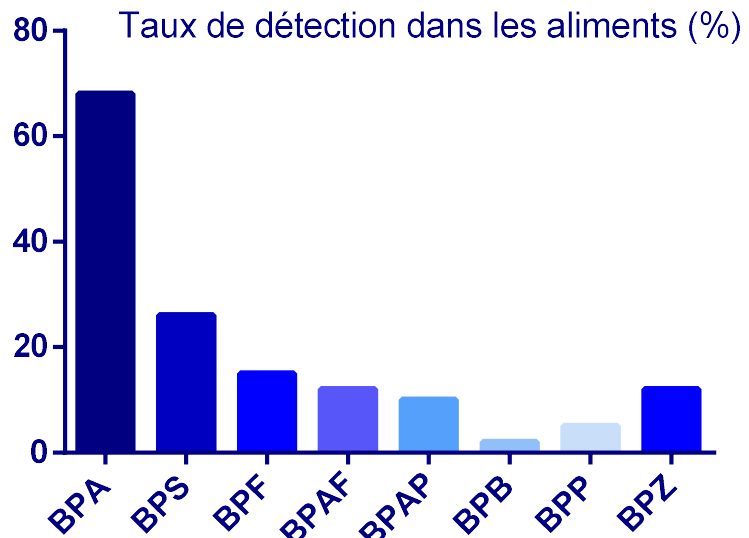
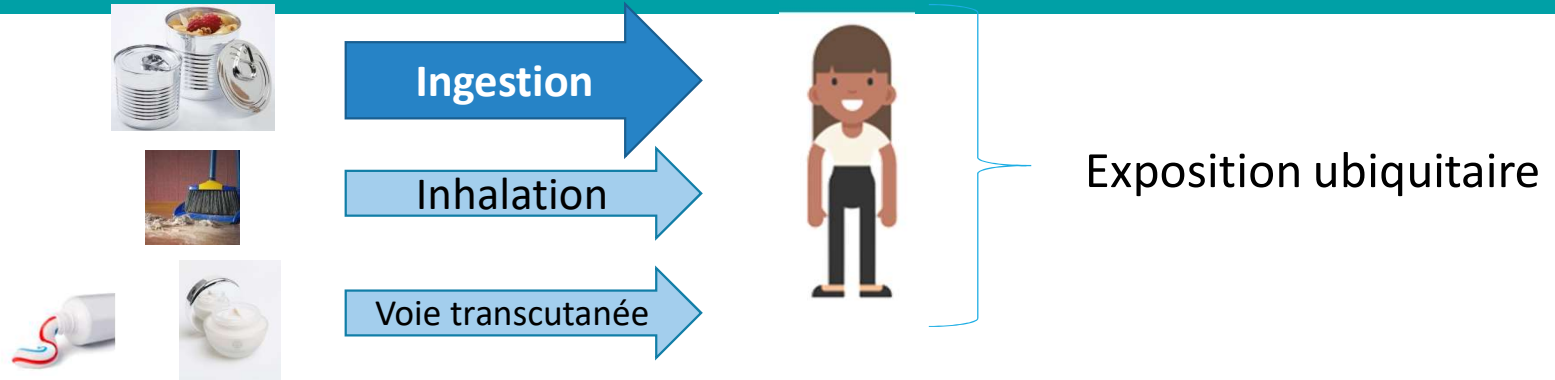
Oestrogénomimétiques

Potentiel
perturbateur
endocrinien

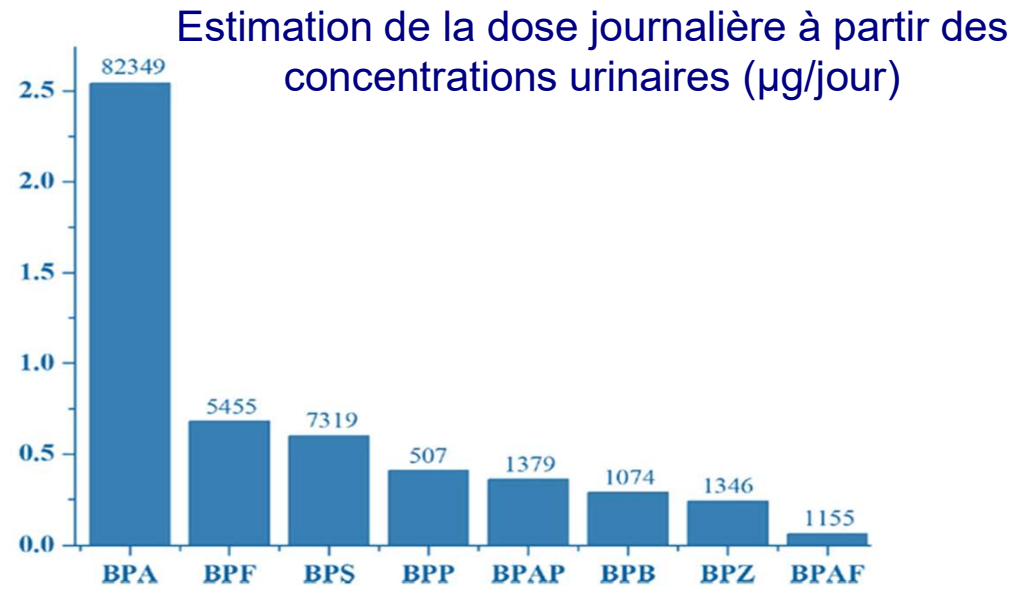
BPs



Contexte



Liao and Kannan, 2013 et 2014, Morgan et Clifton, 2021, Karsauliya et al. 2021.



Wang et al. 2020.

Contexte

Risque



Fréquence
du danger



Effets



Substitutions
regrettables

Exposition

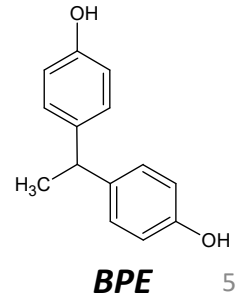
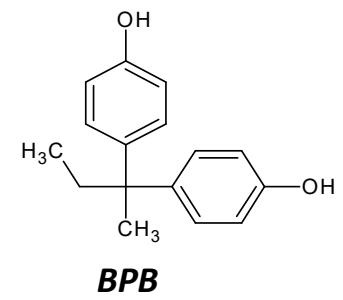
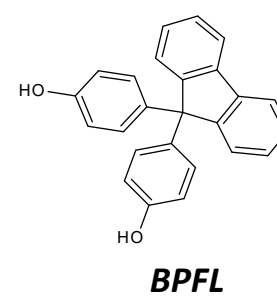
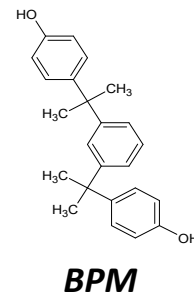
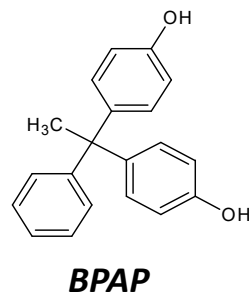
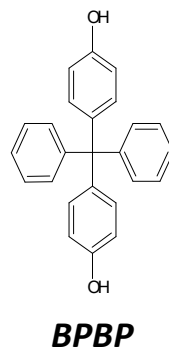
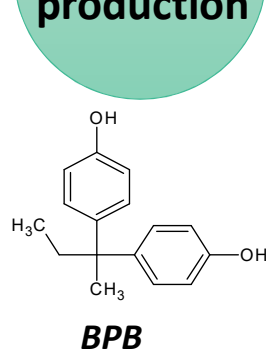
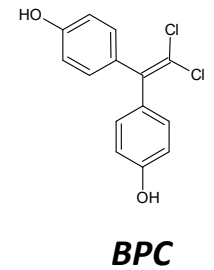
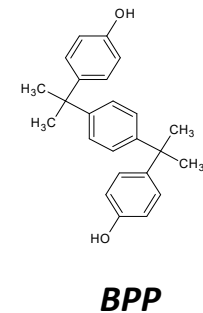
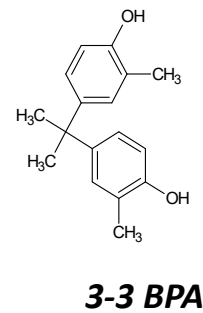
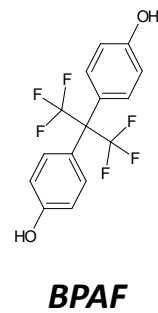
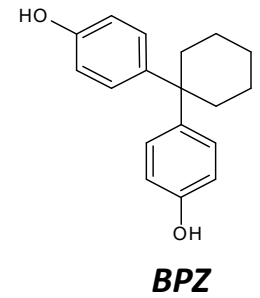
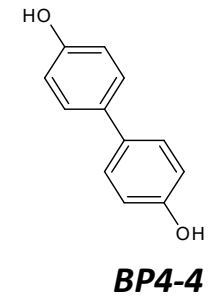
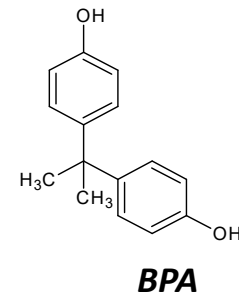
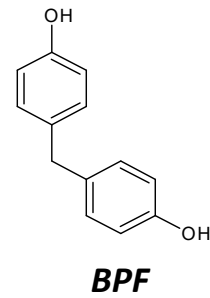
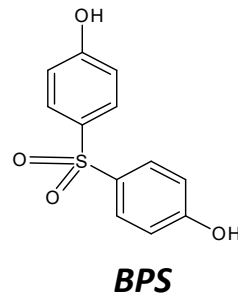
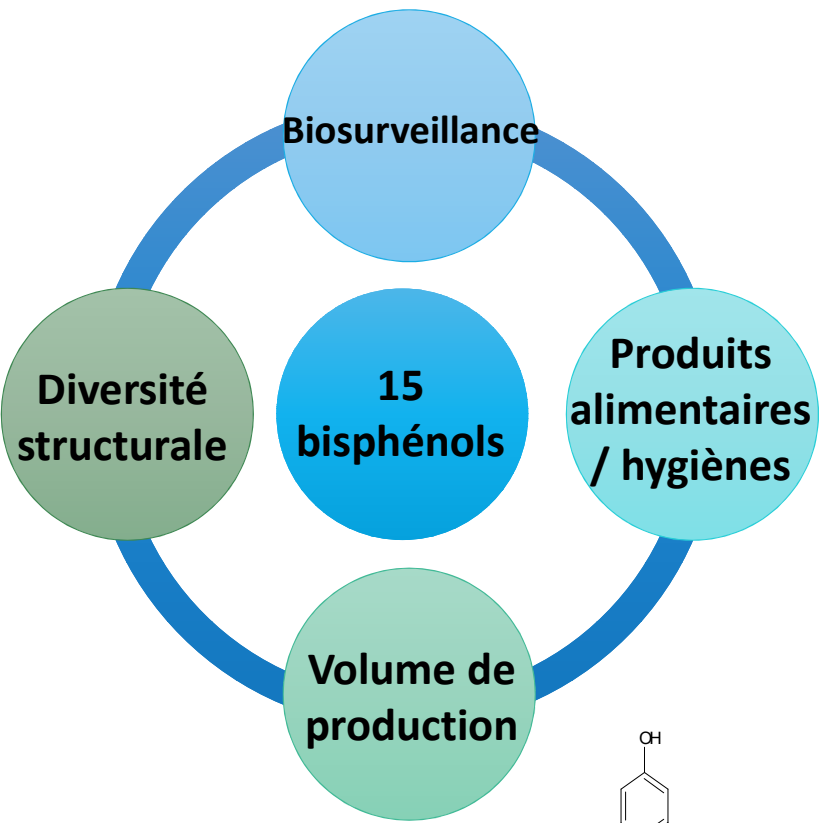
Etude de
biosurveillance

Mécanismes d'exposition

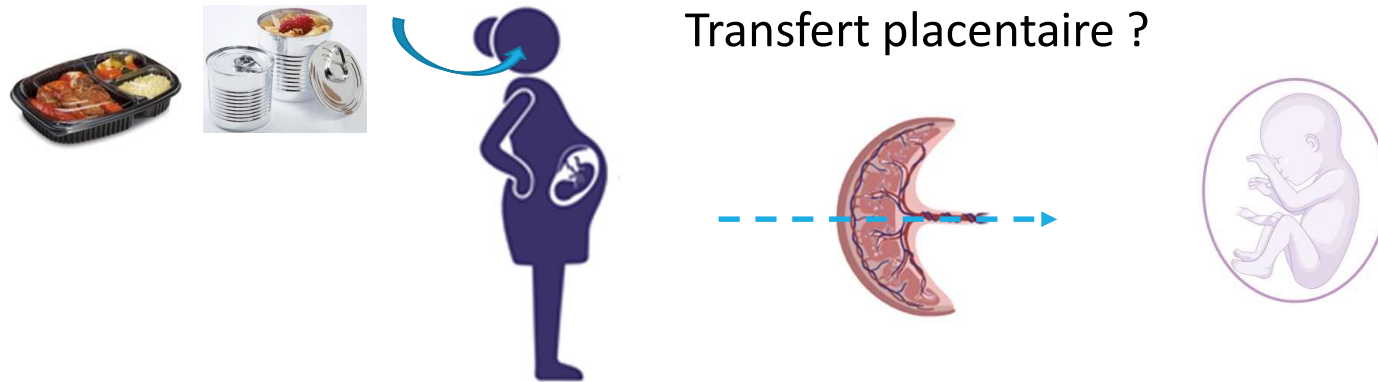
Développement de modèles prédictifs de l'exposition

**Evaluer les paramètres toxicocinétiques déterminant
l'exposition interne des analogues du BPA**

Bisphénols étudiés



Contexte

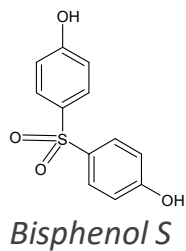


Exposition systémique
maternelle ?

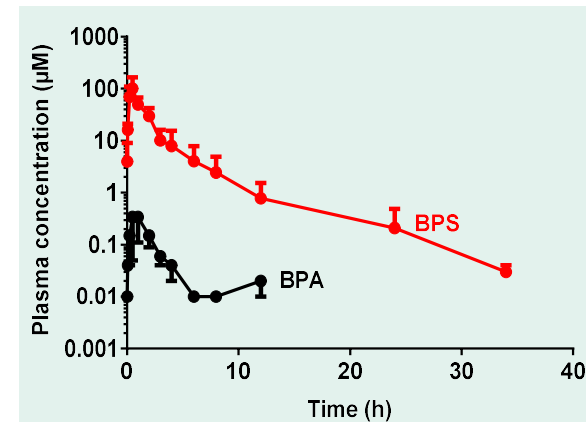
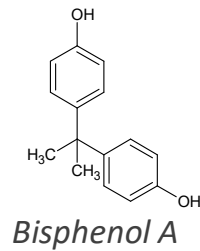
Exposition par voie orale au BPA et au BPS

Oral Systemic Bioavailability of Bisphenol A and Bisphenol S in Pigs

Véronique Gayraud,^{1,2} Marlène Z. Lacroix,³ Flore C. Grandin,^{1,2} Séverine H. Collet,^{1,2} Hanna Mila,^{1,2} Catherine Viguié,^{1,2} Clémence A. Gély,^{1,2} Blandine Rabozzi,^{1,2} Michèle Bouchard,⁴ Roger Léandri,⁵ Pierre-Louis Toutain,^{3,6} and Nicole Picard-Hagen^{1,2}

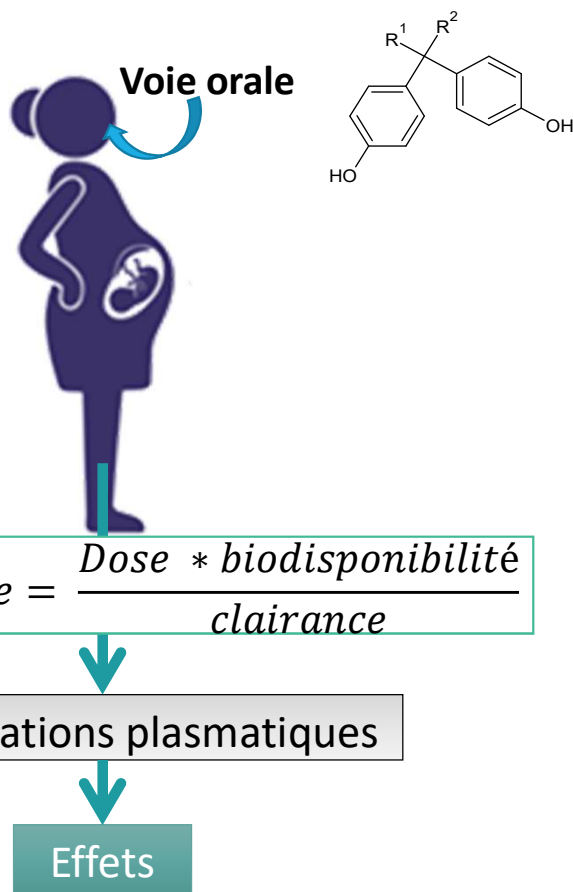


VS



250 fois plus
exposé au BPS
qu'au BPA

Objectif



Evaluer les paramètres toxicocinétiques déterminant l'exposition interne maternelle des analogues du BPA

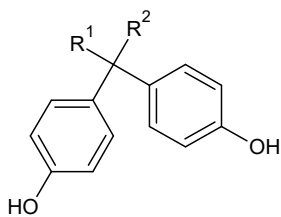
Procédure d'expérimentale

Administration de 12 BPs : BPA, 3-3 BPA, BPF, BPZ, BPM, BPAF, BPB, BPS, BPFL, BP4-4, BPP, BPAP



Voie intraveineuse

Voie orale



IV : 6 $\mu\text{mol/kg}$

VO : 200 $\mu\text{mol/kg}$

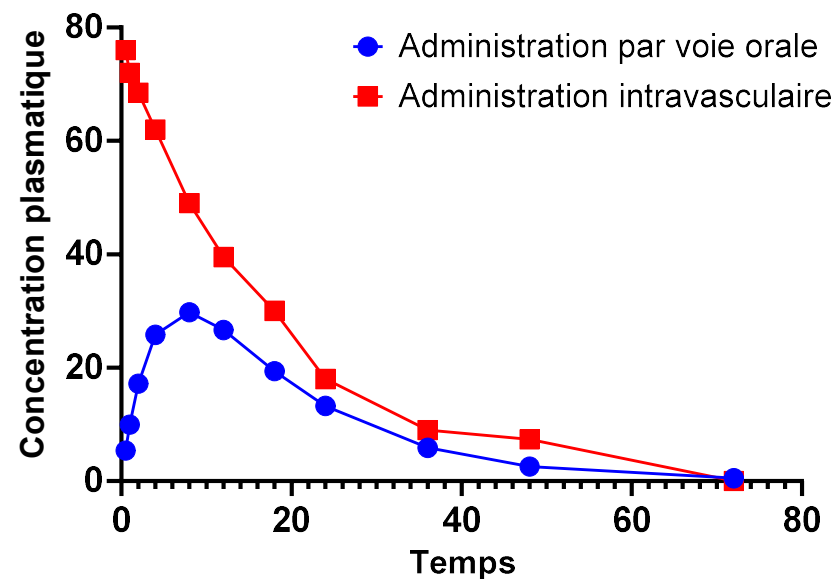


6 prélèvements :
24h



17 prélèvements :
72h

Décours temporel des concentrations plasmatiques



Stratégie analytique



- Bisphénols aglycones (BPs)
- Bisphénols totaux (BPs + BPs-G)



- Bisphénols aglycones (BPs)

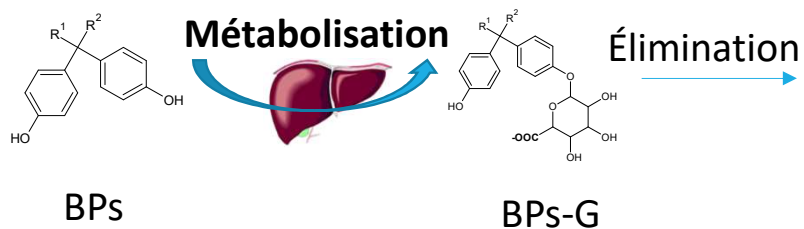
Dosages simultanés


Méthodes spécifiques

Calibration sur 3 log de [C]

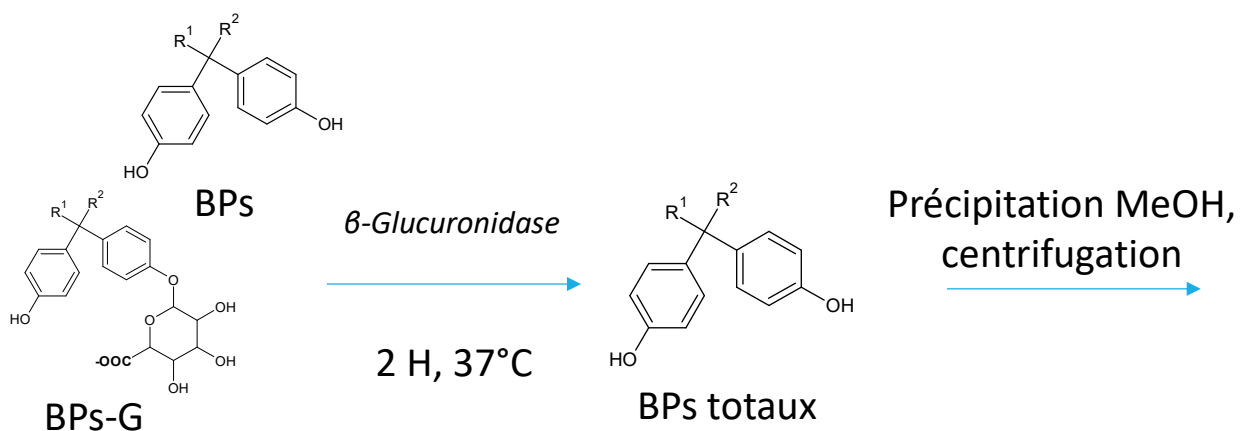
Rapide et simple (≈ 100 échantillons/ jours)

Quantification BPs Totaux

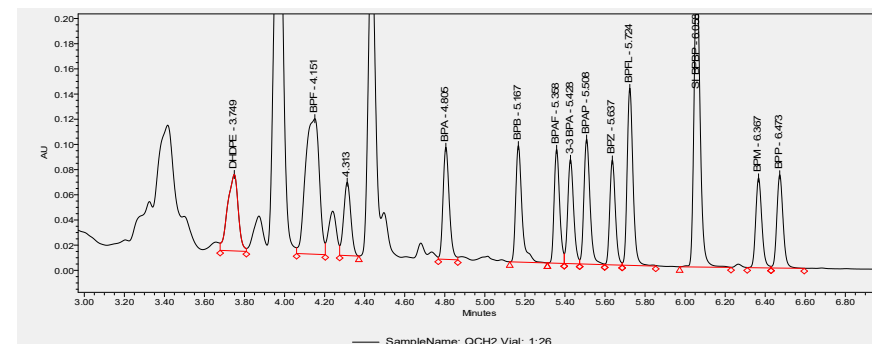


 Concentrations élevées en BPs-G + BPs

 **Détection UV**



UHPLC-UV

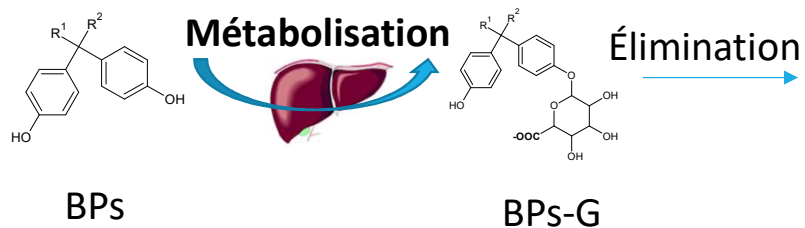


Chromatogramme BPs total à 0,3 µg/mL dans les urines de porcs, colonne BEH Phényl

Calibration : 0,2 - 100 µg/mL
LOQ entre 0,2 et 1 µg/mL



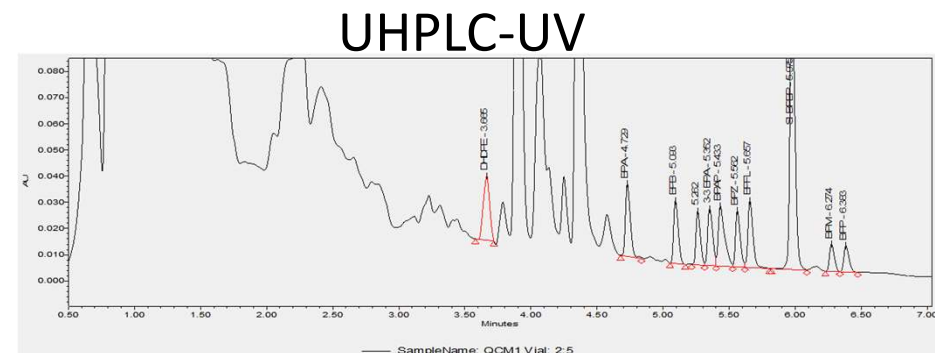
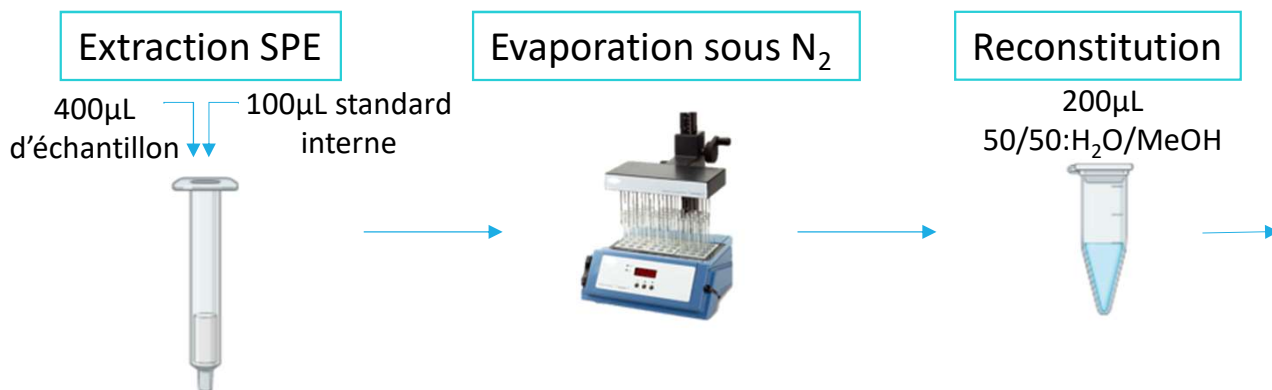
Quantification BPs Aglycones



BPs-G >> BPs

➔ **Pré-concentration**
Détection UV

Préparation d'échantillon adaptée de Gély et al, 2021

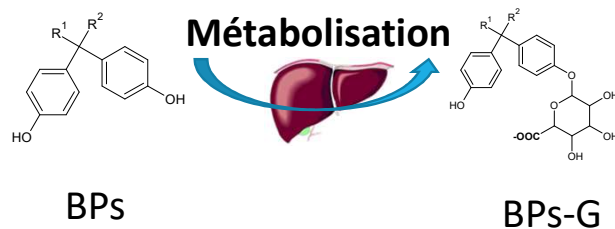


Chromatogramme BPs aglycones à 0,15 µg/mL dans les urines de porcs, colonne BEH Phényl

Pré-concentration par 2
 Calibration: 0,01 - 20 µg/mL
 LOQ entre 0,01 et 1 µg/mL

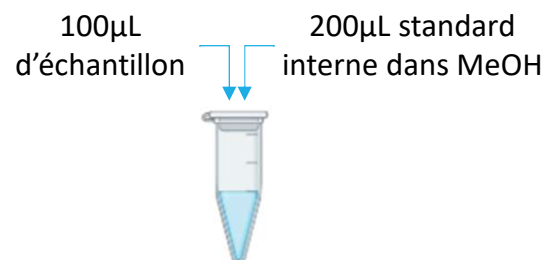


Quantification BPs Aglycones



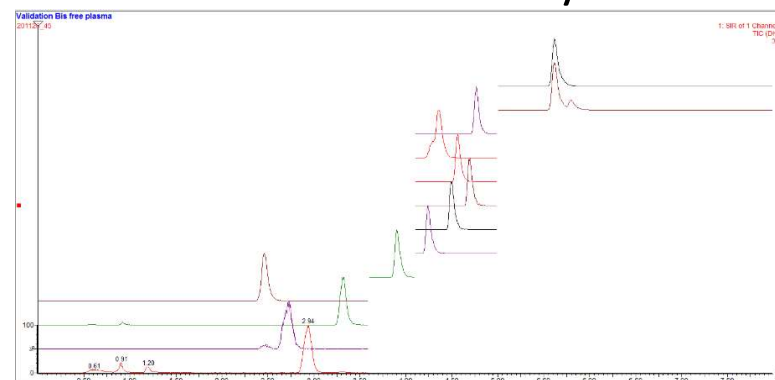
- BPs rapidement métabolisés
- Suivi sur 72 h

→ Nécessite une faible sensibilité
Détection MS/MS



Vortex, centrifugation

UHPLC-MS/MS

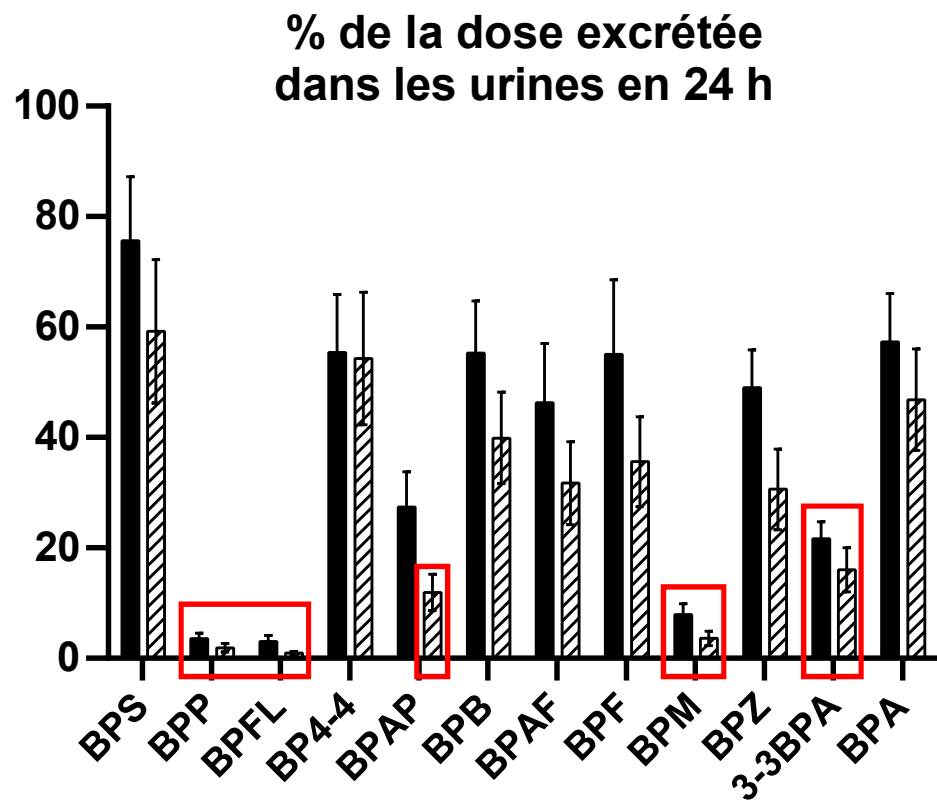


MRM à 250 ng/mL des bisphénols aglycones dans le plasma de porcs, colonne BEH Phényl

Calibration : 2,5 - 2500 / 5000 ng/mL
LOQ entre 2,5 et 5 ng/mL



Résultats



■ IV
▨ VO

➔ Absorption élevée

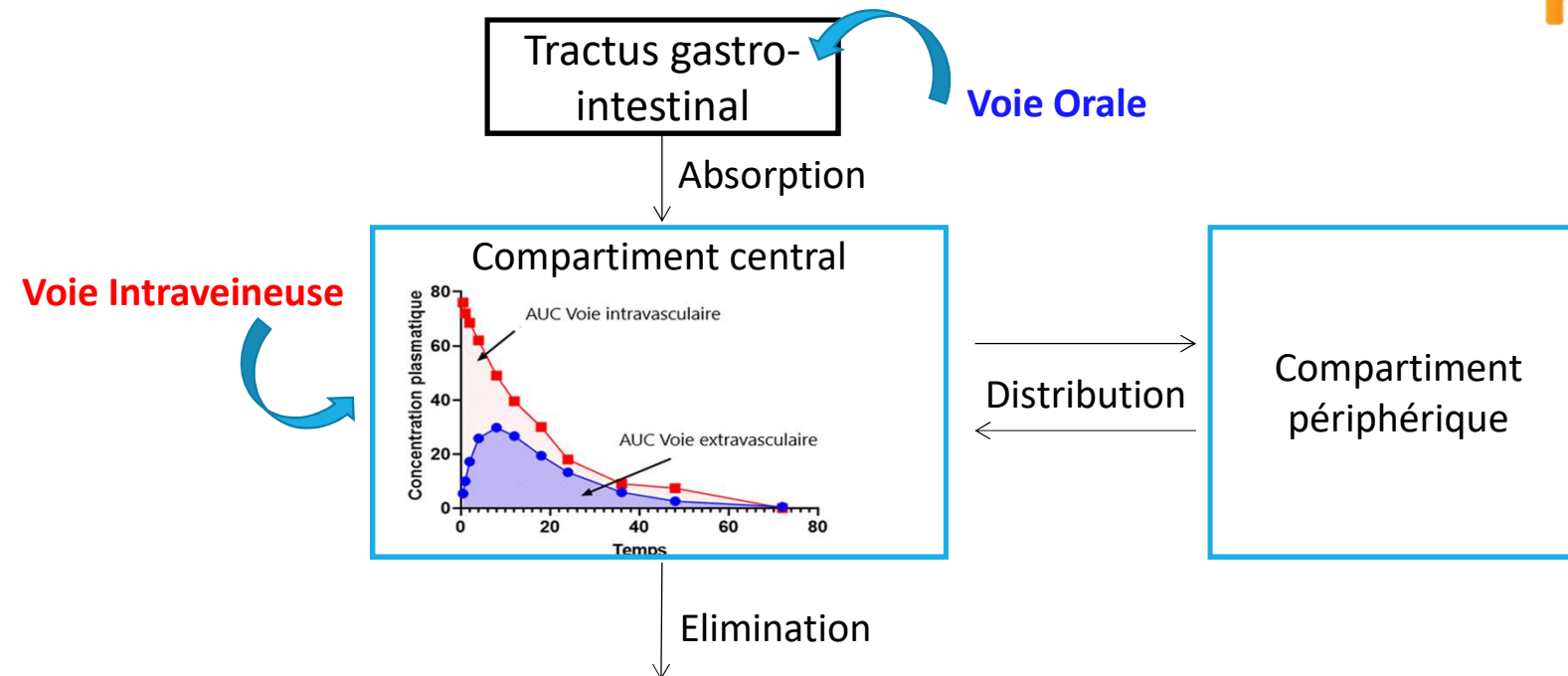
➔ % de la dose excrétée variable en fonction de BPs

⚠ → Métabolite glucuronide non majoritaire
→ Non éliminé dans les urines

➔ Dose sous forme aglycone < 1%

Résultats

Paramètres TK déterminés par modélisation non linéaire à effet mixte



Paramètres TK :

- Clairance = $\frac{Dose}{AUC_{IV}}$
- Biodisponibilité = $\frac{AUC_{VO}}{AUC_{IV}}$

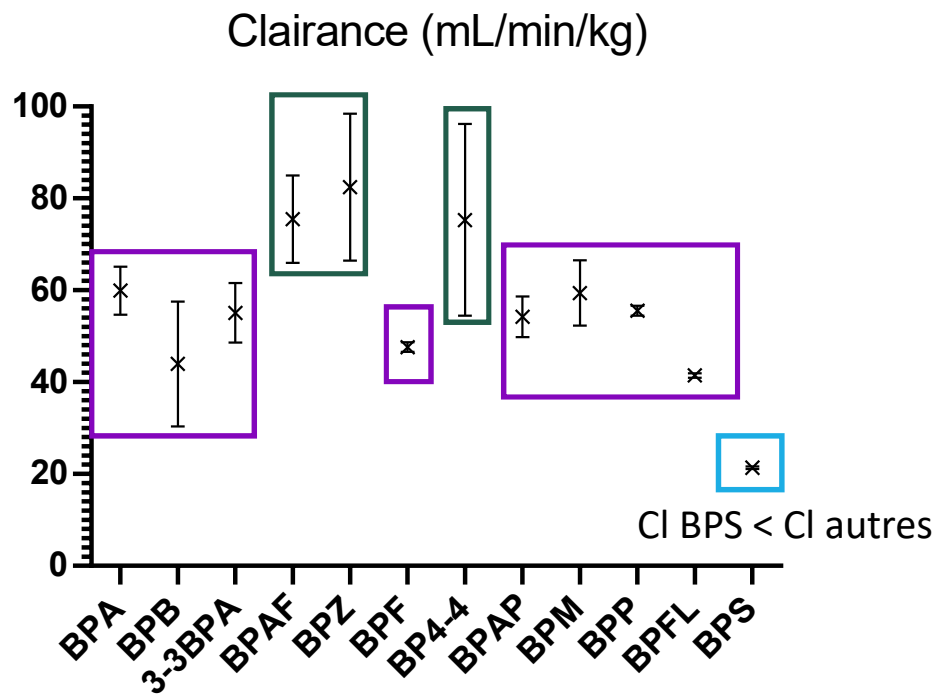
TK approche cocktail **vs** TK BPA BPS administrés seul (Gayraud et al., 2019)

→ Pas d'effet sur la clairance et la biodisponibilité

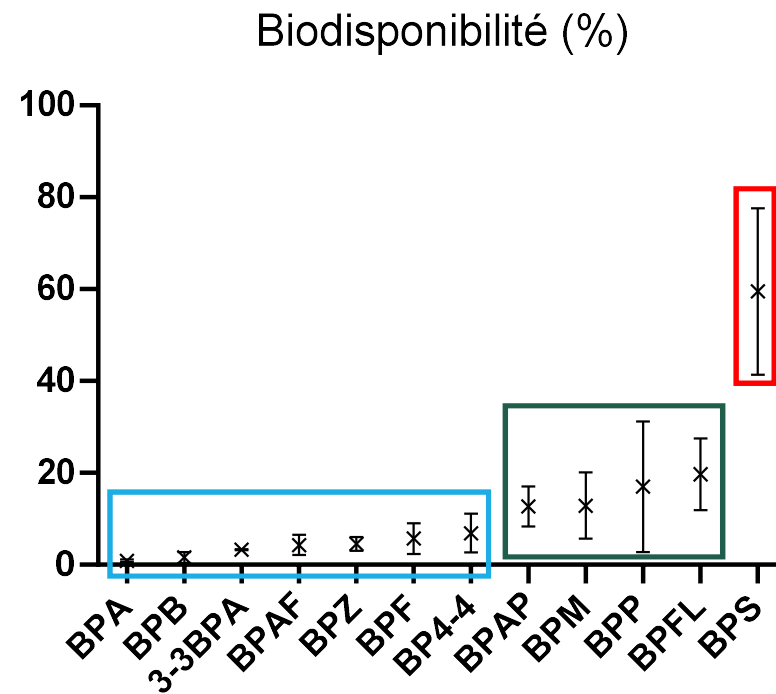


Approche cocktail validée

Résultats

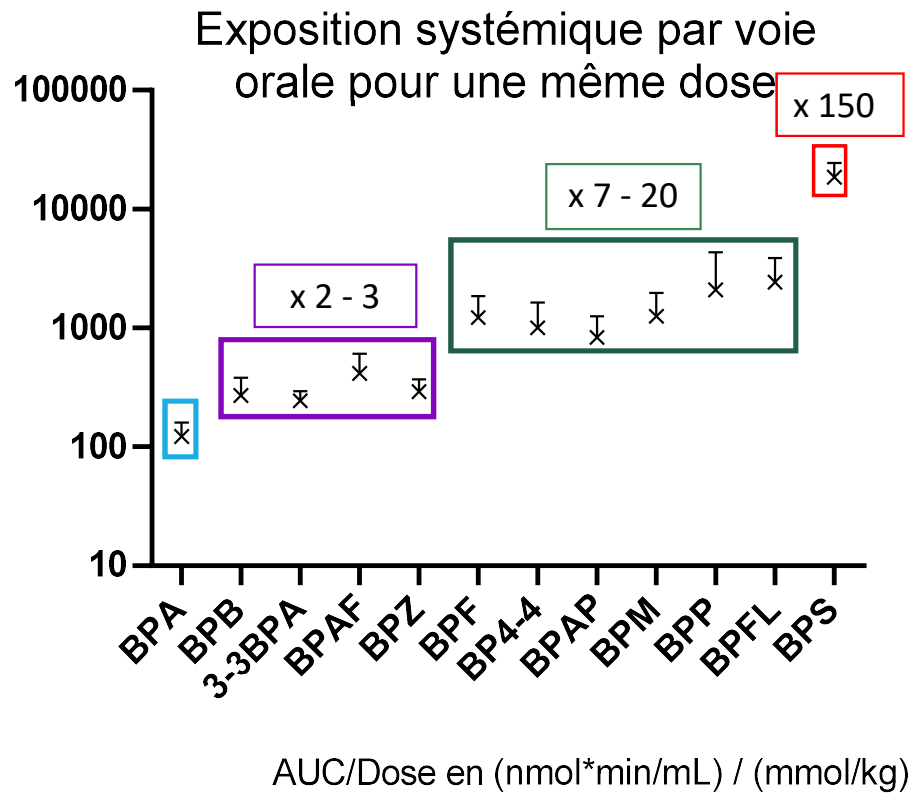


60 < Cl < 80 mL/min/kg
40 < Cl < 60 mL/min/kg
Cl < 40 mL/min/kg



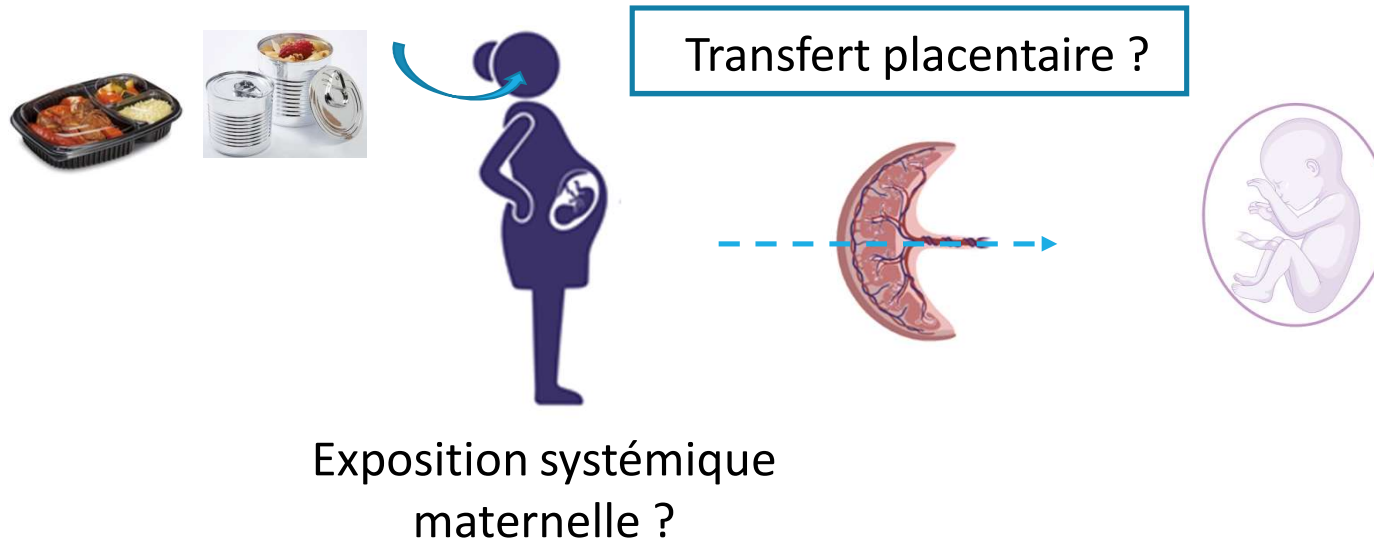
1 < F < 7 %
13 < F < 20 %
F = 60 %

Résultats



- TK des BPs en mélange → Réduction nombre d'animaux
 - Paramètres TK ≠ selon les BPs
 - BPA plus faible exposition maternelle
- BPS : substitution regrettable en terme d'exposition

Contexte



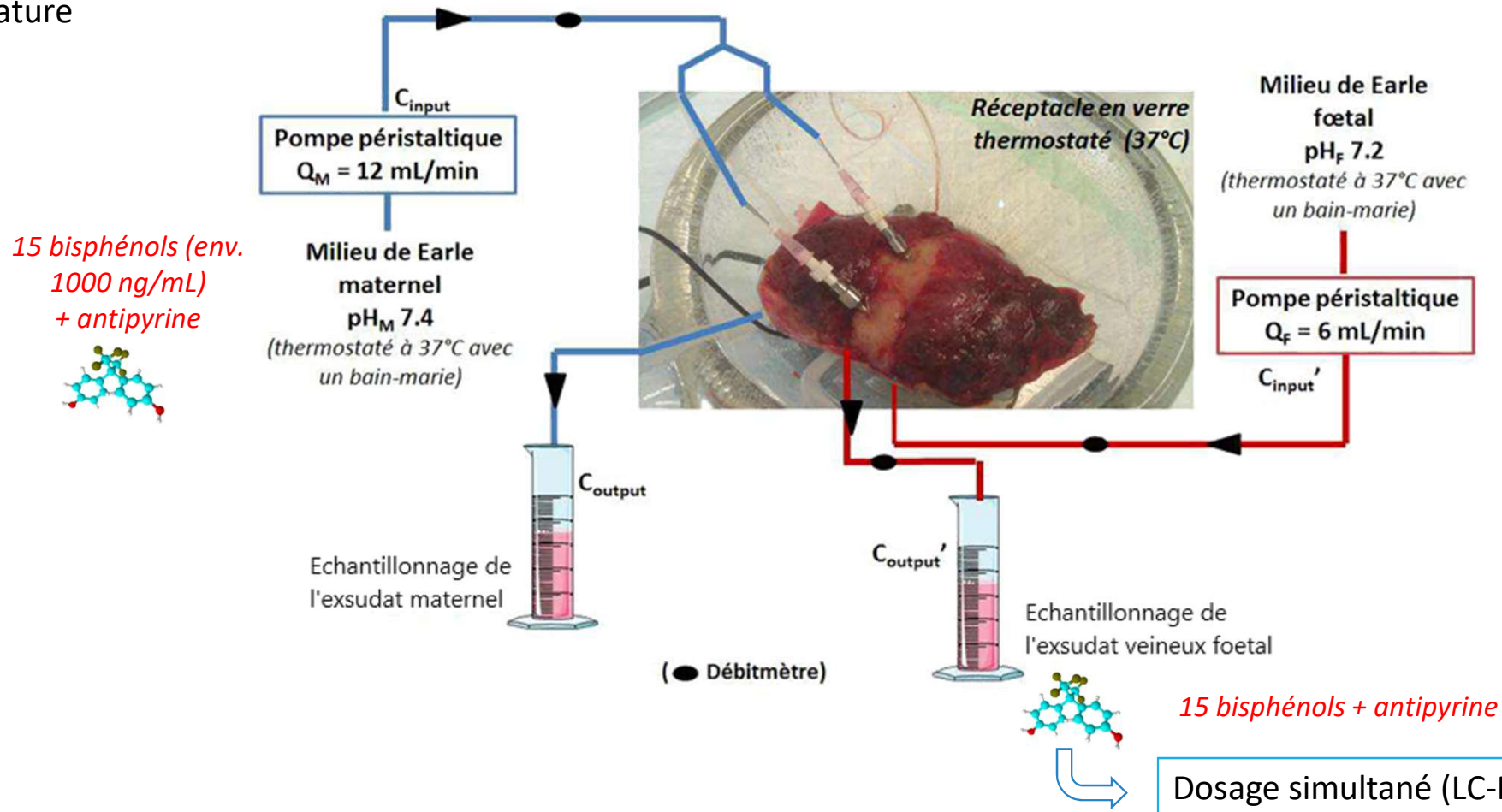
Evaluer les paramètres toxicocinétiques (passage placentaire) déterminant l'exposition fœtale des analogues du BPA

Transfert placentaire

Conditions physiologiques :

- Débit
- Température
- Milieu
- pH

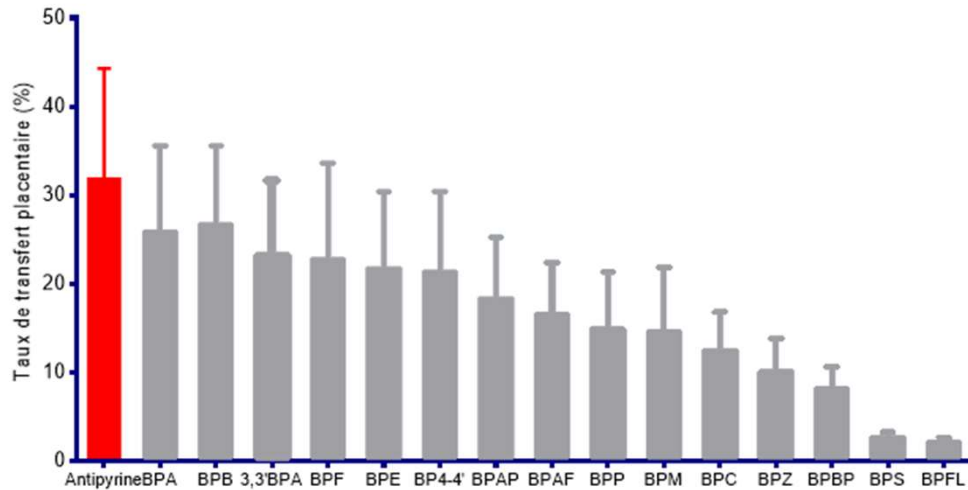
Collaboration avec l'hôpital Paule de Viguiier



Transfert placentaire

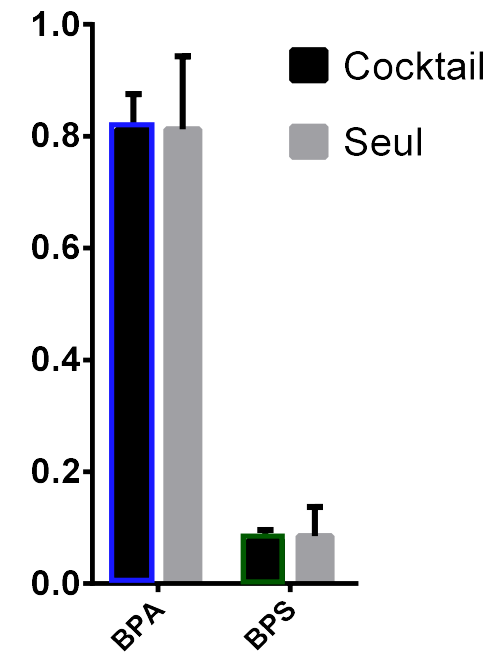
$$\text{Taux de transfert (\%)} = \frac{[C] \text{ dans exsudats foetal}}{[C] \text{ dans milieu maternel}} * 100$$

$$\text{Indice de clairance (InCl)} = \frac{\text{Taux de transfert bisphénol}}{\text{Taux de transfert antipyrine}}$$



n=5

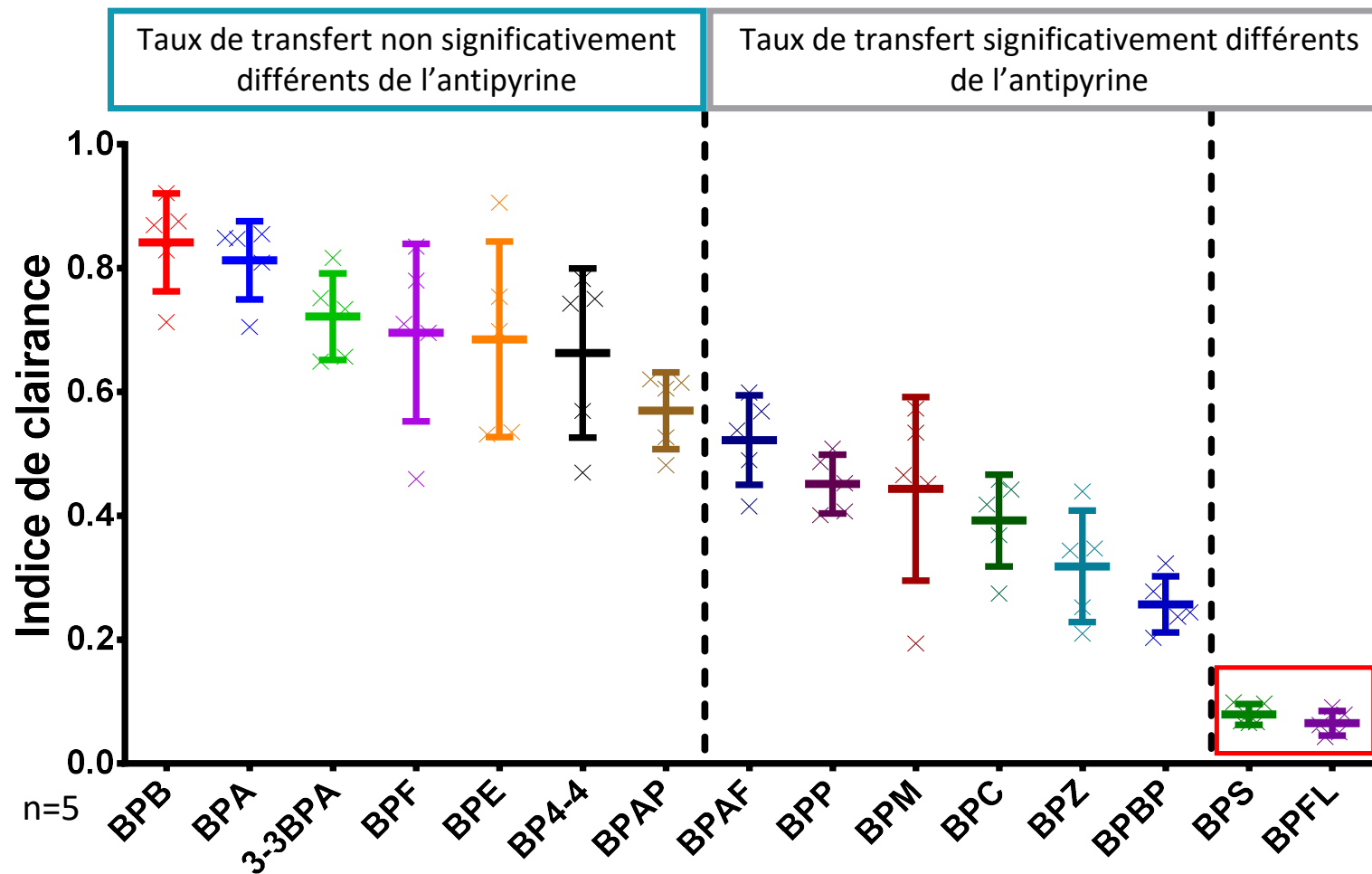
Indice de clairance



Validation approche cocktail



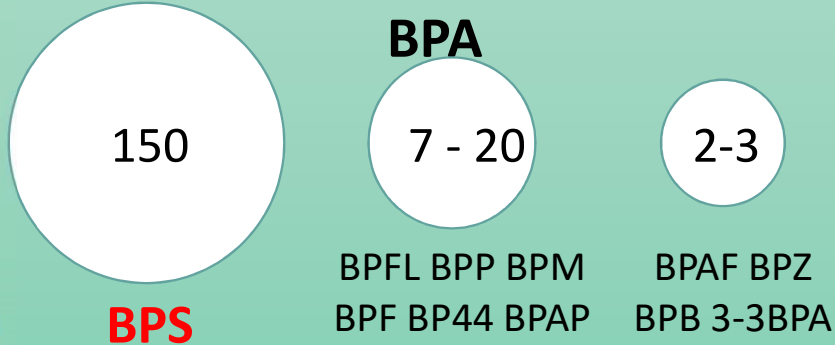
Transfert placentaire



Conclusion



Exposition maternelle par rapport au BPA



Passage placentaire ex-vivo par rapport au BPA



Dose entrant dans le compartiment foetal par rapport au BPA



Passage foeto-maternel
Métabolisme foetal
Structures moléculaires ↔ TK

Remerciement



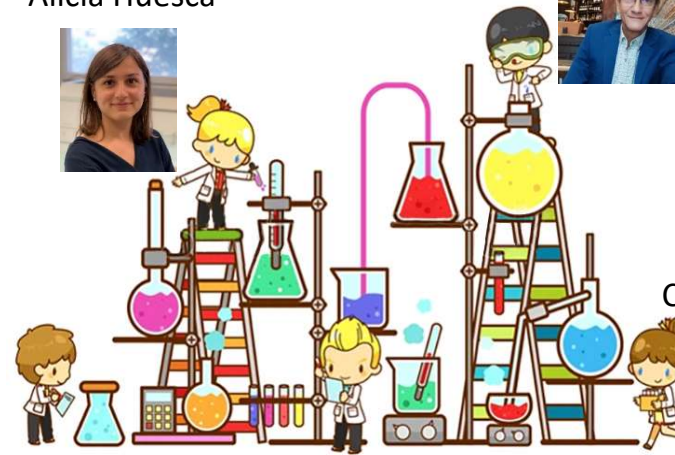
Equipe EXPER



Alicia Huesca



Felipe Ramon-Portugal



Chloé Argoul



Marlène Lacroix



Jean-François Sutra



Tableau 2 : Etat de la réglementation du BPA dans divers pays.

Pays	Application	Limite	Introduction
Union Européenne	Plastique en contact avec les denrées alimentaires	Limite de migration fixée à 0.05 mg/kg	2018
	Biberons en polycarbonate*	Interdit	2011
	Jouets	Limite de migration fixée à 0.04 mg/l	2017
	Papiers thermiques	Interdit (limite fixée à 0.02% du poids)	2020
Autriche	Tétines et jouets de dentition	Interdit	2012
Belgique	Contenants alimentaires dédiés aux enfants de moins de 3 ans	Interdit	2013
Danemark	Contenants alimentaires dédiés aux enfants de moins de 3 ans	Interdit	2010
France	Tous les contenants alimentaires	Interdit	2015
Suède	Contenants alimentaires dédiés aux enfants de moins de 3 ans	Interdit	2013
Suisse	Plastique, vernis et revêtement en contact avec la nourriture	Limite de migration fixée à 0.05 mg/kg	2019
	Vernis et revêtement de contenants alimentaires dédiés aux nourrissons et enfants en bas-âge	Aucune migration autorisée	2019
	Jouets	Limite de migration fixée à 0.04 mg/l	2018
	Biberons en polycarbonate*	Interdit	2017
	Papiers thermiques	BPA et BPS interdits (limite fixée à 0.02% du poids)	Décembre 2020
Australie	Pas d'interdiction réglementaire		
Chine	Biberons en polycarbonate	Interdit	2011
Canada	Biberons en polycarbonate	Interdit	2010
Japon	Pas d'interdiction, mais mesures volontaires des fabricants		
USA	Biberons en polycarbonate	Interdit	2012
	Contenants alimentaires dédiés aux enfants de moins de 3 ans	Interdit ou non selon les Etats	2010-2013

* Dans le cadre de la législation des matières plastiques en contact avec les denrées alimentaires