

## Mesures à haute sensibilité du passage de contaminants nanométriques à travers les gants de protection par imagerie médicale

Mahmoud Mohamed Omar  
Amélie Augé  
Myriam Laprise-Pelletier  
Ludovic Tuduri  
Marc-André Fortin

RAPPORTS  
SCIENTIFIQUES

R-1162-fr

## NOS RECHERCHES travaillent pour vous !

**Solidement implanté au Québec depuis 1980, l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) est un organisme de recherche scientifique reconnu internationalement pour la qualité de ses travaux.**

### Mission

Dans l'esprit de la Loi sur la santé et la sécurité du travail (LSST) et de la Loi sur les accidents du travail et les maladies professionnelles (LATMP), la mission de l'IRSST est de :

Contribuer à la santé et à la sécurité des travailleuses et travailleurs par la recherche, l'expertise de ses laboratoires, ainsi que la diffusion et le transfert des connaissances, et ce, dans une perspective de prévention et de retour durables au travail.

### Pour en savoir plus

Visitez notre site Web ! Vous y trouverez une information complète et à jour. De plus, toutes les publications éditées par l'IRSST peuvent être téléchargées gratuitement. [www.irsst.qc.ca](http://www.irsst.qc.ca)

Pour connaître l'actualité de la recherche menée ou financée par l'IRSST, abonnez-vous gratuitement :

- au magazine *Prévention au travail*, publié conjointement par l'Institut et la CNESST ([preventionautravail.com](http://preventionautravail.com))
- au bulletin électronique [InfoIRSST](#)

### Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2022  
ISBN 978-2-89797-233-2 (PDF)

© Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail, 2022

IRSST - Direction des communications, de la veille et de la mobilisation des connaissances  
505, boul. De Maisonneuve Ouest  
Montréal (Québec)  
H3A 3C2  
Téléphone : 514 288-1551  
[publications@irsst.qc.ca](mailto:publications@irsst.qc.ca)  
[www.irsst.qc.ca](http://www.irsst.qc.ca)

# Mesures à haute sensibilité du passage de contaminants nanométriques à travers les gants de protection par imagerie médicale

Mahmoud Mohamed Omar<sup>1,2</sup>, Amélie Augé<sup>1,2</sup>,  
Myriam Laprise-Pelletier<sup>1,2</sup>, Ludovic Tuduri<sup>3</sup>  
Marc-André Fortin<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Département de génie des mines, de la métallurgie et des matériaux, Centre de recherche sur les matériaux avancés (CERMA); Université Laval, Québec, Canada

<sup>2</sup> Axe Médecine régénératrice, Centre de recherche du CHU de Québec-Université Laval, Québec, Canada

<sup>3</sup> Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux (EPOC - UMR 5805 CNRS), Équipe de Physico- et Toxicochimie de l'environnement (LPTC), Université de Bordeaux

RAPPORTS  
SCIENTIFIQUES

R-1162-fr



## Avis de non-responsabilité

L'IRSST ne donne aucune garantie relative à l'exactitude, la fiabilité ou le caractère exhaustif de l'information contenue dans ce document.

En aucun cas l'IRSST ne saurait être tenu responsable pour tout dommage corporel, moral ou matériel résultant de l'utilisation de cette information.

Notez que les contenus des documents sont protégés par les législations canadiennes applicables en matière de propriété intellectuelle.

Cette publication est disponible en version PDF sur le site Web de l'IRSST.



#### ÉVALUATION PAR DES PAIRS

Conformément aux politiques de l'IRSST, les résultats des travaux de recherche publiés dans ce document ont fait l'objet d'une évaluation par des pairs.

# TABLE DES MATIÈRES

<b>SOMMAIRE .....</b>	<b>VII</b>
<b>ACRONYMES, SIGLES ET ABRÉVIATIONS.....</b>	<b>IX</b>
<b>1. PROBLÉMATIQUE .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVUE DE LITTÉRATURE.....</b>	<b>4</b>
2.1 Introduction.....	4
2.2 Normes encadrant les gants utilisés comme EPI .....	5
2.3 Matériaux des gants utilisés comme EPI.....	6
2.4 Méthodes d'essais et caractérisation de la résistance des gants .....	7
2.4.1 Essais de dégradation normalisés.....	7
2.4.2 Tests d'étanchéité .....	8
2.4.3 Essais de pénétration des bactéries, moisissures et virus .....	9
2.4.4 Essais de perméation normalisés.....	9
2.5 Analyses de perméation de contaminants par cellules de diffusion.....	10
2.5.1 Première loi de la diffusion de Fick.....	14
2.5.2 Activité thermodynamique .....	15
2.6 Étude du passage des NP à travers une membrane par cellules de diffusion .....	18
2.7 Technologies de mesure du passage des NP à travers les membranes par cellules de diffusion.....	20
2.8 Limites analytiques des techniques spectroscopiques et spectrométriques pour les mesures de perméation des NP métalliques à travers les gants.....	22
2.9 Méthodes utilisant la radioactivité dans les tests de perméation .....	23
2.10 Tomographie par émission de positons (TEP) .....	25
2.10.1 Principes de fonctionnement de la TEP .....	25
2.10.2 Éléments radioactifs émetteurs de positons .....	27
<b>3. OBJECTIF ET HYPOTHÈSE.....</b>	<b>29</b>
3.1 Objectif .....	29
3.2 Hypothèse .....	29
<b>4. MÉTHODOLOGIE .....</b>	<b>30</b>
4.1 PARTIE 1 : Conception et validation d'une cellule de diffusion à partir d'un modèle simple de perméation .....	30
4.1.1 Conception de la cellule de diffusion .....	30

4.1.2	Préparation du complexe DFO- <sup>89</sup> Zr .....	31
4.1.3	Sensibilité du système TEP aux ions <sup>89</sup> Zr .....	32
4.1.4	Évaluation de l'effet de débordement du signal (« spill-off »).....	32
4.1.5	Essais de perméation du complexe DFO- <sup>89</sup> Zr à travers des membranes de dialyse de porosité contrôlée .....	34
4.1.6	Reconstruction des images, traitement et analyse des données de perméation .....	35
4.1.7	Essais comparatifs de perméation avec une technique analytique conventionnelle .....	35
4.2	PARTIE 2 : Développement d'une procédure de radiomarquage de nanoparticules d'or avec l'ion <sup>89</sup> Zr .....	36
4.2.1	Synthèse des US-AuNP .....	36
4.2.2	Radiomarquage des US-AuNP .....	37
4.2.3	Caractérisations des US-AuNP avant et après radiomarquage .....	37
4.2.4	Sensibilité du système TEP aux US-AuNP- <sup>89</sup> Zr .....	38
4.3	PARTIE 3 : Essais de perméation par TEP des NP au travers de gants de nitrile et de latex.....	38
4.3.1	Sélection des milieux et des membranes de perméation .....	38
4.3.2	Préparation et caractérisation des membranes.....	39
4.3.3	Préparation des nanoparticules .....	39
4.3.4	Essais de perméation .....	39
4.3.5	Reconstruction des images, analyse et traitement des données de perméation .....	40
4.3.6	Calculs des paramètres de perméation .....	41
4.3.7	Analyses post-perméation .....	41
4.4	Réactifs, produits et équipements .....	42
<b>5.</b>	<b>RÉSULTATS .....</b>	<b>44</b>
5.1	PARTIE 1 : Conception et validation d'une cellule de diffusion à partir d'un modèle simple de perméation .....	44
5.1.1	Sensibilité du système de TEP à la détection du radioisotope <sup>89</sup> Zr .....	44
5.1.2	Préparation du complexe DFO- <sup>89</sup> Zr .....	45
5.1.3	Essais de perméation .....	46
5.1.4	Comparaison des données avec une autre méthode analytique.....	49
5.2	PARTIE 2 : Développement d'une procédure de radiomarquage de nanoparticules d'or avec l'ion <sup>89</sup> Zr .....	50
5.2.1	Synthèse et caractérisation des US-AuNP .....	50
5.2.2	Radiomarquage des US-AuNP et leur caractérisation .....	51

5.2.3	Sensibilité du système TEP aux US-AuNP- <sup>89</sup> Zr .....	52
5.3	PARTIE 3 : Essais de perméation par TEP des NP au travers de gants de nitrile et de latex.....	53
5.3.1	Sélection des membranes .....	53
5.3.2	Caractérisation des membranes .....	56
5.3.3	Essais de perméation .....	58
5.3.4	Essais post-perméation .....	64
<b>6.</b>	<b>DISCUSSION .....</b>	<b>68</b>
	<b>CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>72</b>
	<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>74</b>

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.	Exigences pour les gants chirurgicaux et les gants d'examen.....	5
Tableau 2.	Comparaison des techniques analytiques les plus couramment utilisées pour la mesure des contaminants dans les cellules de Franz.....	22
Tableau 3.	Différentes techniques impliquant la détection de rayonnement produit à partir de radioisotopes nucléaires* .....	24
Tableau 4.	Liste des principaux radioisotopes émetteurs de positons.....	28
Tableau 5.	Identification des gants pouvant être sélectionnés pour l'étude.....	54
Tableau 6.	Liste des membranes de gants utilisées pour les mesures de perméation.....	55
Tableau 7.	Analyse élémentaire par EDX des différents types de gants : moyenne de plus de 10 points analysés dans 3 zones différentes sur chaque échantillon de gant ; chacune des mesures a été réalisée sur la ligne $K\alpha$ de chaque élément.....	57
Tableau 8.	Paramètres de perméation mesurés avec des gants en latex et en nitrile, immergés dans l'éthanol 70 % et une solution saline tampon phosphate (PBS).....	63

## LISTE DES FIGURES

Figure 1.	Concepts de dégradation, de pénétration et de perméation d'un matériau constituant une membrane de gants. ....	8
Figure 2.	Schémas de cellules de diffusion de type Franz. ....	12
Figure 3.	Exemple de profil de perméation à dose infinie.....	13
Figure 4.	Schéma du processus d'annihilation des positons. ....	25
Figure 5.	Conception et assemblage de la cellule de diffusion insérée dans le système TEP. ....	31
Figure 6.	Évaluation de l'effet de débordement du signal résultant de la désintégration du $^{89}\text{Zr}$ par l'acquisition.....	34
Figure 7.	Étapes de la synthèse des nanoparticules radioactives US-AuNP- $^{89}\text{Zr}$ .....	36
Figure 8.	Courbes de corrélation reliant l'intensité détectée par le système TEP et l'activité mesurée à l'aide d'un compteur gamma pour différentes concentrations en oxalate de $^{89}\text{Zr}$ .....	44
Figure 9.	Essais de stabilité du complexe DFO- $^{89}\text{Zr}$ menés par CCM. ....	45
Figure 10.	(A) Coupe axiale de la cellule de perméation faisant apparaître les régions d'intérêt placées dans chaque compartiment. Profils de perméation du DFO- $^{89}\text{Zr}$ au travers des membranes de dialyse dans le CD (B) et dans le CA (C, D, E). Ces profils sont représentés avec différentes échelles de temps : une échelle linéaire (B, C, D) et une échelle logarithmique (E). ....	47
Figure 11.	Détermination des temps de latence ( $\tau$ ) par extrapolation de la portion linéaire de la courbe jusqu'à l'abscisse pour les membranes de dialyse de 3,5 kDa (A), 25 kDa (B) et 300 kDa (C).....	48
Figure 12.	Profils comparatifs de perméation du DFO- $^{89}\text{Zr}$ au travers de membranes possédant une taille de pores de 25 kDa ( $n = 3$ ), réalisés par TEP et par HPLC-UV (données tirées de la mesure du CA). ....	49
Figure 13.	Caractérisation des US-AuNP.....	51
Figure 14.	(A) Courbe de corrélation reliant l'intensité du signal TEP et la concentration en Au déterminée par analyse élémentaire (MP-AES). (B) Grossissement des échelles de concentration en Au et de l'intensité permettant la mise en évidence de la LOD.....	53
Figure 15.	Images MEB des membranes de latex avant (A-B) et après (C-D) le traitement ; de nitrile N1 avant (E-F) et après (G-H) le traitement ; de nitrile N2 avant (I-J) et après (K-L) le traitement ; de nitrile N3 avant (M-N) et après (O-P) le traitement.....	56

Figure 16.	Profils de perméation des US-AuNP- <sup>89</sup> Zr dans l'éthanol 70 % et dans le PBS, acquis par imagerie TEP dans le CD et dans le CA. ....	58
Figure 17.	Profils de perméation des US-AuNP- <sup>89</sup> Zr au travers des membranes polymères dans l'éthanol 70 % - L1 (A), N1 (B), N2 (C) et N3 (F) et le PBS - L1 (D) et N1 (E). ....	60
Figure 18.	Profils d'accumulation des US-AuNP- <sup>89</sup> Zr dans les membranes polymères. ....	62
Figure 19.	Spectres FTIR de la face intérieure des gants en latex (L1) (de 2000 à 800 cm <sup>-1</sup> ), après différents traitements (A à E). ....	65
Figure 20.	Analyse chimique par FTIR des membranes de nitrile N1 (A), N2 (B) et N3 (C) : après réception, après immersion dans l'éthanol 70 % et le PBS, ainsi qu'après perméation par des US-AuNP- <sup>89</sup> Zr. (D) Schéma expliquant l'interaction des atomes de ZnII contenus dans les membranes nitriles avec le groupe DFO à la surface des US-AuNP. ....	67

## SOMMAIRE

Les gants de polymère sont utilisés comme équipements de protection individuels dans de nombreux secteurs d'activité professionnelle où les risques chimiques sont présents. Leur efficacité à bloquer le passage de certains contaminants doit être mesurée par des méthodes d'essais précises et standardisées. Les mesures de résistance chimique sont généralement effectuées en utilisant une cellule de perméation, un petit appareil contenant deux réservoirs séparés par la membrane dont on veut mesurer le potentiel-barrière : l'un contient le contaminant, l'autre contient un milieu collectant le contaminant après que celui-ci ait passé à travers la membrane. Au fur et à mesure de l'expérience, le milieu collecteur est échantillonné pour en mesurer la teneur en contaminants. Le temps de résistance de la membrane au passage des contaminants, ainsi que leur vitesse de passage à travers celle-ci, sont ainsi évalués.

En Amérique du Nord, les tests de perméation des contaminants à travers les gants de polymère sont encadrés par des normes (exemple : ASTM-F739). Cette méthode est bien éprouvée pour la mesure du passage de molécules de solvants à travers les gants. Or, lorsque l'on veut mesurer le passage de molécules moins volatiles, ou à faible concentration, car potentiellement très toxiques (ex. pesticides ou agents de chimiothérapie), ou encore des nanoparticules (NP), les limites de détection des techniques analytiques actuelles sont généralement insuffisantes. Elles ne permettent pas de mesurer en temps réel la cinétique de passage des contaminants à travers les gants ; il est donc impossible de tirer à partir des courbes de perméation certaines données cruciales tels le coefficient de diffusion, le temps de passage (ou temps de latence avant perméation), le taux de perméation et l'afflux des contaminants dans la membrane.

Afin de mesurer précisément et de façon quantitative les paramètres cinétiques décrivant le passage de contaminants à travers les gants, il est nécessaire de développer une cellule de perméation utilisant un mode de détection ayant un degré de sensibilité très élevé et permettant des mesures en continu. Dans ce projet de recherche, une nouvelle technologie a été développée sous la forme d'une cellule de perméation adaptée à l'imagerie nucléaire par tomographie par émission de positons (TEP). La TEP permet de détecter des molécules et des nanoparticules à un degré de sensibilité largement supérieur aux méthodes spectroscopiques et spectrométriques habituellement employées pour la détection des processus de perméation. Le dispositif a été élaboré à partir de polymère dont la nature et les dimensions n'atténuent pas les rayonnements émis par les radioisotopes utilisés pour marquer les molécules et les nanoparticules.

La nouvelle technologie de cellule de perméation sous TEP a été testée sur des échantillons de gants de latex et de nitrile parmi les plus couramment utilisés dans les laboratoires biomédicaux et les cliniques de médecine nucléaire situées dans les centres hospitaliers. Comme contaminant type, des nanoparticules d'or (AuNP) ont été employées, car ce type de produit, de plus en plus utilisé en médecine, est particulièrement difficile à détecter par les techniques de mesure usuelles dans les tests

de perméation. Les données acquises lors de ces études ont permis de révéler des profils de perméation de nanoparticules à une très haute résolution temporelle, avec une sensibilité de détection permettant de calculer tous les paramètres principaux décrivant la perméation des contaminants à travers les membranes (coefficient de diffusion, temps de latence, taux de perméation, etc).

Les temps de latence au début de la perméation, mesurés dans le compartiment donneur, étaient tous supérieurs à 3 heures, ce qui est largement au-dessus de la durée maximale usuelle pour le port d'une même paire de gants de polymère. Ces résultats confirment qu'une fraction infime de NP passe à travers les membranes de nitrile et de latex pendant la période d'usage des gants de polymère utilisés comme EPI (moins de 2 h) et offrent une excellente protection cutanée contre les nanoparticules ultra-petites utilisées dans le domaine biomédical et, notamment, celles à base d'or. Cette technologie sera aussi utile dans le cas de contaminants habituellement très difficiles à détecter par les techniques de mesure déjà connues (ex. : pesticides et agents de chimiothérapie, virus).

## ACRONYMES, SIGLES ET ABRÉVIATIONS

Acronyme	Définition
$^{89}\text{Zr}$	traceur radioactif
AEM	Agence européenne des médicaments
ASTM	American Society for Testing and Materials
CA	compartiment accepteur
CCM	chromatographie sur couche mince
CEN	Comité européen de normalisation ( <i>European Committee for Standardization</i> )
CD	compartiment donneur
cps	comptes par seconde
DFO	déféroxamine
DLS	diffusion dynamique de la lumière ( <i>diffusion light scattering</i> )
EPI	équipement de protection individuelle
EDTA	acide éthylènediaminetétraacétique
EDX	spectroscopie à rayons X à dispersion d'énergie
FDA	Food and Drug Administration
FDC	cellule de diffusion de Franz ( <i>Franz diffusion cell</i> )
FOV	champ de vue ( <i>field of view</i> )
FTIR	spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
HPLC (UV)	chromatographie en phase liquide à haute pression, avec détecteur de rayons UV
ICP-AES/OES	spectroscopie d'émission atomique par plasma à couplage inductif ( <i>atomic emission/optical emission spectroscopy</i> )
ICP-MS	spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif
ISO	Organisation internationale de normalisation ( <i>International Standards Organisation</i> )
LOD	limite de détection ( <i>limit of detection</i> )
LOQ	limite de quantification ( <i>limit of quantification</i> )
MEB	microscopie électronique à balayage
MET	microscopie électronique à transmission
MP-AES	spectroscopie d'émission atomique par plasma micro-ondes
MWCO	<i>molecular weight cut-off</i>

**IRSST** ■ Mesures à haute sensibilité du passage de contaminants nanométriques à travers les gants de protection par imagerie médicale

<b>Acronyme</b>	<b>Définition</b>
NIH	National Institutes of Health
NP	nanoparticules
ONGC	Office des normes générales du Canada (Canadian General Standards Board, CSGB)
ROI	région d'intérêt délimitée ( <i>region of interest</i> )
TEP	tomographie par émission de positons
US-Au NP	nanoparticules d'or ultra-petites ( <i>ultra-small gold nanoparticles</i> )
XPS	spectroscopie électronique des rayons X

# 1. PROBLÉMATIQUE

La peau est le plus grand organe du corps humain et représente la plus importante barrière qui sépare les organes internes de l'environnement extérieur. Dans plusieurs environnements de travail, la peau est susceptible d'être endommagée. En fait, on estime qu'aux États-Unis seulement, environ 13 millions de travailleurs sont en contact fréquent avec des matières dangereuses pouvant causer des accidents du travail (Wiszniewska et Walusiak-Skorupa, 2015). D'ailleurs, la dermatite professionnelle compte parmi les problèmes de santé les plus courants dans le monde du travail, et on estime qu'aux États-Unis, un total de 1 milliard de dollars est alloué annuellement au traitement de cette maladie (Wiszniewska et Walusiak-Skorupa, 2015). La problématique de l'exposition cutanée professionnelle aux NP et aux produits nanoactivés a été décrite dans deux articles récents de Brouwer et ses collègues (Brouwer *et al.*, 2016 ; Filon *et al.*, 2016).

En l'absence de mesures de prévention de l'exposition suffisamment efficaces, plusieurs types d'équipements de protection individuels (EPI) sont disponibles afin de réduire les lésions cutanées : gants, vêtements (blouses, combinaisons, manchettes, etc.), chaussures spécialisées, etc. (Cherrie *et al.*, 2004). Les gants comptent parmi les EPI les plus fréquemment utilisés, et ce, en raison du fait que les mains sont invariablement impliquées dans les manipulations expérimentales. Plusieurs organisations de normalisation telles l'ASTM International (historiquement l'*American Society for Testing and Materials*, ASTM), l'Organisation internationale de normalisation (ISO) et le Comité européen de normalisation (CEN, ECS) ont développé des méthodes d'essais pour caractériser et quantifier la capacité des membranes de gants en polymère à fournir une barrière protectrice efficace contre les solvants, les molécules potentiellement toxiques et les nanoparticules (ASTM International F739-20, 2020b ; ASTM International F1383-20, 2020c ; CEN EN 455-1:2020, 2020 ; ISO 374-2:2019, 2019a ; ISO 6529:2013, 2013 ; Mellstrom *et al.*, 2004). Ces tests permettent de mieux caractériser en conditions de laboratoire la pénétration des matières dangereuses à travers les gants, et de faciliter leur choix pour assurer la sécurité des travailleurs (Cherrie *et al.*, 2004).

Plusieurs tests standardisés ont été développés pour évaluer les gants selon leur risque de dégradation et de susceptibilité à la pénétration et à la perméation par des contaminants (Cherrie *et al.*, 2004). Les tests de perméation des gants utilisent généralement un dispositif appelé cellule de perméation (ASTM International F739-20, 2020b ; ASTM International F1383-20, 2020c ; ISO 374-2:2019, 2019a). Ce dispositif est formé de deux compartiments, l'un donneur (le « CD ») et l'autre accepteur (le « CA ») de la substance à mesurer. Ils sont séparés par une membrane du matériau à tester (Heylings, 2014). Le contaminant testé est ajouté dans le compartiment donneur puis diffuse à travers le matériau testé vers le compartiment accepteur, où il peut être échantillonné. Un profil de perméation de substance dans le matériau peut alors être révélé, permettant d'extraire tous les paramètres cinétiques expliquant le comportement du contaminant à travers la membrane. Les cellules utilisées pour la mesure de la

perméation des contaminants à travers les gants sont largement inspirées des cellules de type Franz, utilisées notamment pour les tests de mesure de perméation des médicaments. Ce type de cellules est décrit à la section 2.5.

Plusieurs normes définissent les limites de certains types de gants en fonction des substances chimiques utilisées (CEN EN 16523-1:2015, 2015; ISO 374-1:2016, 2016a; ISO 374-2:2019, 2019a; ISO 374-4:2019, 2019b). Malheureusement, ces normes n'incluent pas les produits chimiques nouvellement développés, les médicaments nouvellement approuvés ni les nanoparticules (NP ; structures appelées nano-objets dont les dimensions sont comprises entre 1 et 1 000 nanomètres [nm]). Cette dernière classe de produits est, à bien des égards, problématique. Les nanotechnologies sont désormais intégrées dans la fabrication d'un grand nombre de produits commerciaux. En 2014, on estimait que les produits intégrant au moins un composant d'origine nanotechnologique représentaient environ 15 % de la production manufacturière mondiale (2,6 billions de dollars) (Lauterwasser, 2016). Beaucoup de ces produits sont intégrés dans les biens de consommation (soins de la peau, shampoings, savons, etc.), dans les cosmétiques et dans les produits de santé. En 2019, dans le secteur médical uniquement, plus de 27 médicaments à base de NP avaient déjà été approuvés par la Food and Drug Administration (FDA) ou l'Agence européenne des médicaments (EMA). Au moins 50 autres produits sont impliqués dans des essais cliniques en cours selon les feuilles de route de la FDA et de l'EMA (Anselmo et Mitragotri, 2019).

Parce que les NP sont des matériaux complexes disponibles dans une infinité de tailles, de compositions, de structures chimiques de surface et de degrés de réactivité, il est très difficile d'établir sans ambiguïté quels produits peuvent être manipulés sans EPI, et lesquels peuvent causer des blessures à la peau, aux yeux, aux poumons, etc. En général, le principe de précaution s'applique pour limiter l'exposition professionnelle des travailleurs aux NP. Cela implique, entre autres directives, le port de gants lors des différentes étapes des processus de fabrication où les NP peuvent être en contact avec la peau (Ostiguy *et al.*, 2014 ; Ostiguy *et al.*, 2008). Avec les progrès des sciences pharmaceutiques, les NP ont acquis une grande importance dans le domaine médical. Plusieurs formulations de NP sont maintenant utilisées pour l'administration de médicaments, les thérapies contre le cancer, l'imagerie, les diagnostics et autres applications (Dreaden *et al.*, 2012 ; Sharma *et al.*, 2018 ; Wilczewska *et al.*, 2012). Cependant, relativement peu d'informations sont disponibles sur les études de pharmacocinétique de ces substances à travers la peau, et encore moins sur leur passage à travers les membranes de polymère constituant les gants de protection (Golanski *et al.*, 2009 ; Park *et al.*, Kwak, Kim et Yi, 2011 ; Vinches *et al.*, 2015).

En conséquence, plusieurs informations ne peuvent, à ce stade, être transmises aux travailleurs qui utilisent les gants de protection pour se protéger (Anselmo et Mitragotri, 2016). Les recommandations pour les manipulateurs de ces produits, en particulier dans les laboratoires et dans les environnements cliniques, doivent encore être clarifiées et raffinées. De nombreuses organisations gouvernementales reconnaissent le manque de

données sur l'efficacité des gants de protection contre le passage des NP, notamment l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST), le Centre canadien d'hygiène et de sécurité au travail, l'Agence européenne pour la santé et la sécurité au travail et la Division de la santé et de la sécurité au travail du National Institutes of Health (NIH) aux États-Unis (Canadian Standards Association [CSA], 2012 ; Kaluza *et al.*, 2009 ; NIH, 2014 ; Ostiguy *et al.*, 2014). Le développement d'études avancées sur la perméation et l'extraction des paramètres de diffusion permettant une comparaison directe entre différents types de membranes, est un aspect clé qui permettrait de contribuer à résoudre ces problématiques.

La détection du passage des NP à travers les membranes lors d'essais de perméation compte parmi les principaux défis à relever pour évaluer la perméation des NP à travers des gants (Golanski *et al.*, 2009 ; Vinches *et al.*, 2015 ; Vinches *et al.*, 2016 ; Vinches *et al.*, 2017). En effet, les mesures de diffusion de NP sont en général effectuées en utilisant soit les techniques spectroscopiques par rayonnement ultraviolet visible (UV-Vis) ou par infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), ou encore les techniques d'analyse élémentaire (c.-à-d. « des éléments chimiques ») telle la spectroscopie d'émission atomique par plasma à couplage inductif (ICP-AES/OES ; *atomic emission/optical emission spectroscopy*) et la spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif (ICP-MS). Cependant, ces techniques ne permettent pas de révéler les profils cinétiques, soit parce qu'elles ne sont pas suffisamment sensibles pour une mesure en continu, soit parce qu'elles nécessitent des prélèvements discrets dans le compartiment accepteur et une préparation d'échantillon conséquente avant analyse (Golanski *et al.*, 2009 ; Vinches *et al.*, 2015 ; Vinches *et al.*, 2016 ; Vinches *et al.*, 2017).

Ainsi, le manque d'informations sur la perméation des NP à travers les gants engendré par la sensibilité insuffisante des techniques analytiques utilisées jusqu'à présent, justifie le développement d'une technique et d'une méthodologie analytique très sensibles permettant de détecter le passage des NP à travers les gants. La fraction de NP pouvant passer à travers les membranes, le temps de passage, ainsi que la rétention des NP dans les membranes, sont autant d'informations qui permettraient de mieux informer et conseiller les travailleurs quant au port des gants les plus sécuritaires. Une technologie et une méthodologie permettant de mesurer en continu et de façon sensible le passage de contaminants à travers les gants pourraient aussi être avantageusement utilisées pour des molécules à haute toxicité à faible dose, tels les agents antinéoplasiques, certains pesticides ainsi que les virus.

## 2. REVUE DE LITTÉRATURE

### 2.1 Introduction

La peau est le plus grand organe du corps et est responsable de plusieurs fonctions critiques, parmi lesquelles la sensation, la régulation de la température, la fonction métabolique ainsi que la protection. La peau protège le corps contre plusieurs dommages tels que les rayons UV, la chaleur ou les lésions chimiques (Venus *et al.*, 2011). En effet, la peau représente la plus grande barrière à l'entrée des xénobiotiques tels que des médicaments, des produits chimiques agricoles, des contaminants industriels et autres substances exogènes. Dans de nombreux environnements de travail, la peau peut entrer en contact avec des substances dangereuses et causer des problématiques de santé telle que la dermatite professionnelle. Aux États-Unis seulement, 13 millions de travailleurs seraient touchés par ce problème (Adisesh *et al.*, 2013 ; Wiszniewska et Walusiak-Skorupa, 2015). Aussi, les contaminants pénétrant par voie cutanée peuvent se distribuer de façon systémique et engendrer toute une cascade de conséquences néfastes pour la santé. De façon générale, dans le milieu médical comme dans n'importe quel autre secteur d'activité professionnelle, le choix des gants est d'une importance primordiale pour réduire l'exposition des travailleurs à une large gamme de substances chimiques potentiellement toxiques.

Le port des gants n'est toutefois recommandé après évaluation que lorsqu'aucune autre solution acceptable n'a pu être identifiée. C'est notamment le cas pour la manipulation de nanoparticules (NP), des substances dont les effets sur les organismes biologiques et sur la santé humaine font toujours l'objet d'études (Ostiguy *et al.*, 2014). En effet, plusieurs études ont déjà démontré que certaines nanoparticules ont une toxicité spécifique différente des mêmes produits chimiques de plus forte taille. Les nanoparticules peuvent être absorbées par voie cutanée ; des études précliniques ont mis en évidence l'effet d'accumulation aux organes de nanoparticules distribuées de façon systémique dans l'organisme. Les nanoparticules ainsi accumulées peuvent causer des réactions d'inflammation et même être associées à l'émergence de certains types de cancers. Les caractéristiques physico-chimiques des nanoparticules telles la taille, la forme, la surface spécifique, la charge, la solubilité et les propriétés de surface jouent un rôle important quant à leurs effets sur les systèmes biologiques, incluant leur capacité de générer un stress oxydatif. Ainsi, une maîtrise des risques potentiels en lien avec la manipulation de ces produits passe par une approche au cas par cas, mais aussi par une approche de précaution afin de minimiser l'exposition des travailleurs.

## 2.2 Normes encadrant les gants utilisés comme EPI

Les gants sont l'un des équipements de protection individuels (EPI) les plus fréquemment utilisés en milieu de travail (Cherrie *et al.*, 2004). Les risques engendrant le recours aux gants comme EPI, peuvent être d'ordre chimique, biologique, radiologique ou encore mécanique. Il convient alors de les hiérarchiser pour orienter le choix des gants. Les tâches à accomplir par les travailleurs doivent également être prises en compte pour optimiser ce choix. Les gants utilisés dans les environnements professionnels sont fabriqués à partir de plusieurs types de matériaux (Dolez *et al.*, 2010 ; Mellstrom et Boman, 2004). Aucun matériau n'est capable de résister à l'ensemble des produits chimiques. Par exemple, on pourra choisir un gant fait de caoutchouc butyle (copolymère isobutylène) lors de manipulations prolongées d'acides, d'esters ou de cétones. Pour des expositions plus courtes à des huiles, des graisses, des produits pétroliers, le matériau nitrile sera favorisé.

En général, les gants utilisés pour protéger les travailleurs des produits chimiques dangereux sont relativement épais ( $\geq 200 \mu\text{m}$  environ) et réutilisables. Ils perturbent de fait l'exécution des tâches professionnelles requérant un haut niveau de dextérité et un contrôle de la préhension important. Ainsi, dans le milieu de la santé, on leur préfère les gants d'examen ou les gants chirurgicaux. Moins épais que les gants de protection chimique ( $\sim 100 \mu\text{m}$  d'épaisseur), jetables, stériles au besoin, et disponibles en un nombre limité de matériaux, ils répondent également à des définitions normatives. Par exemple, les normes ISO 10282 et ISO 11193 définissent respectivement les spécifications de gants en caoutchouc à usage chirurgical, non réutilisables et celles de gants d'examen non réutilisables (ISO 10282:2014, 2014 ; ISO 11193-1:2020, 2020). Le tableau 1 présente un résumé comparatif de certaines exigences pour ces gants.

**Tableau 1. Exigences pour les gants chirurgicaux et les gants d'examen**

	Gants chirurgicaux ISO 10282	Gants d'examen ISO 11193
Étanchéité à l'eau	NQA <sup>1</sup> = 1,5	NQA=2,5
Force à la rupture (N)	9-12,5 <sup>2</sup>	7-7 <sup>2</sup>
Élongation à la rupture (%)	600-700 <sup>2</sup>	500-650 <sup>2</sup>
Force maximale pour 300 % d'élongation (N)	2-3 <sup>2</sup>	-
Épaisseur minimale (mm)		
Surface lisse	0,10	0,08
Surface texturée	0,13	0,11

<sup>1</sup> NQA : niveau de qualité acceptable ; traduit un niveau de qualité en production industrielle. NQA petit = qualité élevée.

<sup>2</sup> Intervalles correspondant aux valeurs de gants 1) de type 1 en latex, ou 2) de type 2, un autre caoutchouc synthétique.

Les gants chirurgicaux doivent être de haute qualité, car les risques de contaminations sont potentiellement plus élevés. Ils doivent aussi être plus résistants à la traction, plus élastiques et plus épais que les gants d'examen. Par ailleurs, pour les gants médicaux, aucun test de résistance chimique ni de pénétration virale comme défini par les normes ISO 10282 et ISO 11193 (ISO 10282:2014, 2014 ; ISO 11193-1:2020, 2020) n'est exigé. Dès lors, des tests additionnels peuvent être effectués. Les méthodes ASTM F1671 et EN 16 604 qui mesurent la résistance à la pénétration d'un pathogène transmissible par le sang, et la méthode ASTM D6978 qui mesure la perméation de médicaments pour la chimiothérapie sont souvent mises en œuvre afin de compléter la caractérisation des gants pour des applications médicales, si le client l'exige (ASTM International F1671/F1671M-13, 2013 ; ASTM International D6978-05[2019], 2019a). Cependant en Amérique du Nord, la normalisation des gants de protection médicaux n'est pas obligatoire.

En Europe, la normalisation des gants de protection contre les produits chimiques ou les micro-organismes est obligatoire, de même que celle des gants médicaux (CEN EN -455-1:2020, 2020 ; ISO 374-1:2016, 2016a ; ISO 374-5:2016, 2016 b). Puisque ce n'est pas le cas au Canada, il est alors plus difficile pour les travailleurs et leurs organisations de procéder à une sélection judicieuse. Au Canada, les gants médicaux doivent cependant être homologués comme des instruments médicaux de classe 2, selon le *Règlement sur les instruments médicaux* (DORS/98-282, (Gaz. Can. II). Ce règlement engage le fabricant de gants à respecter certaines exigences générales. L'office des normes générales du Canada (ONGC, CSGB) encourage également les fabricants à participer à des programmes de certification. Ainsi, les fabricants de gants à usage médical acceptant de se conformer aux normes ISO 10282, ISO 11193-1, 11193-2 ou ASTM D5250 peuvent voir leur nom référencé sur le site internet de Service public et approvisionnement Canada (ASTM International D5250-19, 2019b ; Gouvernement du Canada, 2020 ; ISO 10282:2014, 2014 ; ISO 11193-1:2020, 2020 ; ISO-11193 2:2006, 2006). Les boîtes de gants certifiés sont alors estampillées d'une marque distinctive attestant de la reconnaissance de la certification par le Conseil canadien des normes.

### **2.3 Matériaux des gants utilisés comme EPI**

L'un des matériaux les plus couramment utilisés pour les gants à usage médical est le latex, un caoutchouc naturel. Malheureusement, ce matériel provoque souvent des réactions allergiques chez les utilisateurs (Mellstrom et Boman, 2004). Du caoutchouc synthétique non allergène a été développé, dont les variantes les plus courantes sont le caoutchouc chloroprène (néoprène) et le caoutchouc nitrile (Mellstrom et Boman, 2004 ; Pirrie et Pirrie, 2017). D'autre part, les gants en polymère polyéthylène offrent transparence et une bonne résistance chimique à faible coût. Les polymères d'alcool polyvinylique et de chlorure de polyvinyle sont également courants. Ces derniers sont en général plus résistants aux solvants organiques, mais moins résistants aux solutions aqueuses (Lonroth *et al.*, 2003 ; Mellstrom *et al.*, 2004 ; Pirrie et Pirrie, 2017). L'objectif de ce rapport n'est pas de recenser l'utilisation des matériaux les plus utilisés comme

gants en milieu biomédical et clinique ; cependant, une rapide consultation auprès des travailleurs dans les cliniques de médecine nucléaire du Centre de recherche du Centre hospitalier universitaire (CR-CHU) de Québec – Université Laval (UL), du Centre hospitalier universitaire de l'Université de Montréal (CHUM), et du service de médecine nucléaire du Centre universitaire de l'Université McGill (CUSM) a permis de confirmer l'utilisation majoritaire des gants de nitrile et, dans une moindre mesure, de ceux en latex (voir section résultats).

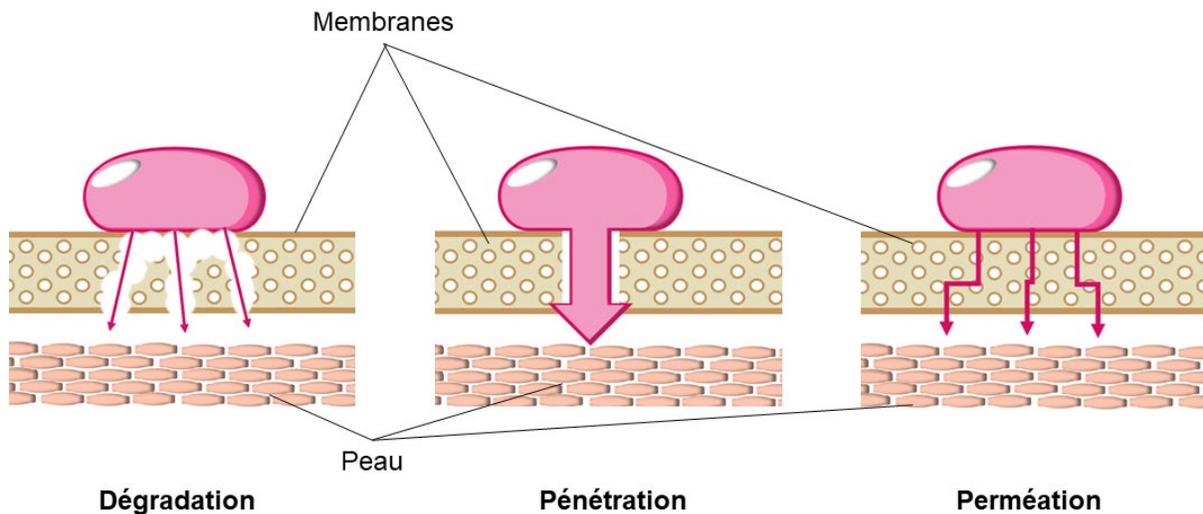
## **2.4 Méthodes d'essais et caractérisation de la résistance des gants**

Plusieurs organismes de normalisation ont développé des essais pour l'évaluation des gants et pour d'autres vêtements de protection. Il s'agit notamment de l'American Society for Testing and Materials (ASTM), de l'Organisation internationale de normalisation (ISO) et du Comité européen de normalisation (CEN) (Boman *et al.*, 2004). La normalisation peut faciliter, ou objectiver, les critères de choix à retenir pour identifier le gant qui convient le mieux pour une utilisation spécifique. Par exemple, l'ISO propose les normes EN ISO 374-1 et EN ISO 374-5 qui définissent respectivement la terminologie et les exigences de performance de gants de protection contre les produits chimiques dangereux et les micro-organismes (ISO 374-1:2016, 2016a ; ISO 374-5:2016, 2016 b). Chacune fait appel à d'autres normes décrivant des méthodes d'essai permettant de mettre à l'épreuve les gants. Il existe plusieurs méthodes normalisées pour tester la résistance des gants aux produits chimiques. Cette section présente les différents essais utilisés pour évaluer les matériaux des gants utilisés comme EPI, les plus courants mesurant la dégradation, la pénétration et la perméation des contaminants dans les membranes (Mellstrom *et al.*, 2004).

### **2.4.1 Essais de dégradation normalisés**

Le concept de dégradation implique la modification de l'intégrité physique d'un matériau lorsqu'il entre en contact avec un composé chimique (figure 1). La résistance des gants à la dégradation est mesurée par des essais d'immersion. Dans ces essais, un morceau du matériau est déposé dans une solution du produit chimique testé pendant une période précise. Le matériau est ensuite examiné pour tout changement physique et un score de résistance chimique lui est ensuite attribué (ASTM International D471-16a, 2016 ; ASTM International D543-20, 2020a ; Mellstrom et Boman, 2004 ; Mellstrom *et al.*, 2004). Il est aussi possible de suspendre le matériau entre la solution chimique d'essai et une solution non réactive (eau ou tampon). Le poids du matériau est ensuite évalué périodiquement. La perte de poids est utilisée comme indicateur de la dégradation du matériau.

**Figure 1. Concepts de dégradation, de pénétration et de perméation d'un matériau constituant une membrane de gants.**



#### **2.4.2 Tests d'étanchéité**

Le concept de pénétration d'un composé chimique réfère à son passage directement à travers les imperfections du matériau d'essai : les pores, coutures et autres imperfections macroscopiques. Pour mesurer l'étanchéité d'un matériau, la norme EN 374-2 sert souvent de référence (ISO 374-2:2019, 2019a). Les normes ASTM D5151 et EN 455-1 propres aux gants médicaux proposent un mode opératoire simple, similaire à celui décrit dans la norme EN 374-2 (ASTM International D5151-19, 2019c ; CEN EN 455-1:2020, 2020). En bref, le gant à tester est rempli avec 1 litre d'eau et on observe les fuites. En l'absence de fuites observées immédiatement, la procédure d'observation se poursuit pendant deux minutes. Le gant réussit le test si aucune gouttelette d'eau n'est visible à l'extérieur du gant après deux minutes (CEN EN 455-1:2020, 2020 ; ISO 374-2:2019, 2019a ; Mellstrom *et al.*, 2004). En plus de ce test d'étanchéité à l'eau, la norme EN ISO 374-2 impose un test d'étanchéité à l'air. Le gant est fixé sur un mandrin permettant d'introduire de l'air à une pression fixe choisie selon l'épaisseur du gant. Il est alors immergé dans un bain d'eau et gonflé à la pression requise. Elle doit être atteinte dans un délai de deux minutes au terme duquel la recherche visuelle de bulles d'air ne doit pas dépasser 30 s. Cette étanchéité mesurée est garante selon la norme EN ISO 374-5 d'un bon niveau de protection contre les bactéries et les moisissures ainsi que d'une réduction de la pénétration de produits chimiques.

### 2.4.3 Essais de pénétration des bactéries, moisissures et virus

Dans le domaine biomédical, la résistance des gants au passage des microorganismes est également évaluée avec la méthode d'essai décrite dans la norme EN 374-2 (ISO 374-2:2019, 2019a). Aussi, les méthodes ASTM F1671 ou EN 16 604 présentent une méthode permettant d'évaluer la résistance de matériaux pouvant être en contact avec du sang ou d'autres liquides corporels, vecteurs potentiels de virus tels que ceux de l'hépatite B, de l'hépatite C ou du SIDA (ASTM International F1671/F1671M-13, 2013 ; ISO 16604:2004, 2004). Pour réaliser ces essais, on utilise un substitut de ces virus, le virus bactériophage PhiX174, un des plus petits virus connus (27 nm de diamètre). Une solution de PhiX174 de titre connu ( $\geq 108$  UFP/mL) et de tension de surface vérifiée est préparée à partir d'un bouillon nutritif. Le matériau à tester est introduit dans une cellule de pénétration de manière à la séparer en deux compartiments. Dans un compartiment, on introduit la solution de PhiX174, puis ce compartiment est placé sous pression pendant un certain temps. Il est alors possible de détecter visuellement le passage de la solution à travers le matériau vers le compartiment collecteur, le cas échéant. À la fin de cet essai, le compartiment récepteur est rincé avec du bouillon, puis ce bouillon est dopé avec des bactéries *Escherichia coli*, puis incubé. Si la présence du bactériophage PhiX174 dans ce liquide collecteur ( $\geq 1$  UFP/mL) est détectée, alors le test a échoué.

### 2.4.4 Essais de perméation normalisés

Même si les tests d'étanchéité et de protection contre les virus s'avèrent concluants, cela ne signifie pas pour autant que les matériaux testés ne laisseront pas passer de produits chimiques. En effet, les molécules peuvent diffuser à travers des membranes polymères exemptes de trous ou d'imperfections. Le concept de perméation (figure 1) fait référence à la migration d'une entité chimique à travers une barrière limitant sa vitesse d'avancée au niveau moléculaire, par exemple, des gants ou de la peau (Boman *et al.*, 2004 ; Yates, 2020). Ce passage est mesuré dans des cellules de perméation normalisées à deux compartiments, dont les cellules de Franz (voir figure 2). Les cellules de diffusion sont constituées de deux chambres séparées par une barrière ou une membrane-test dont on veut mesurer le potentiel-barrière. L'une des chambres est le compartiment donneur dans lequel le matériel d'essai est chargé. L'autre chambre est appelée compartiment accepteur et est généralement remplie d'un milieu collecteur (eau, tampon, air, etc.). Le fluide dans le compartiment accepteur est échantillonné à différents moments afin de fournir une mesure précise de la perméation chimique à travers la membrane. Le compartiment accepteur peut être un système en boucle ouverte ou fermée. En d'autres termes, la boucle ouverte implique une circulation continue de fluide collecteur propre à travers le compartiment et une analyse subséquente, alors que la boucle fermée implique la recirculation du milieu de collecte vers le compartiment accepteur après avoir été analysé (ASTM International F739-20, 2020b ; ASTM International F1383-20, 2020c ; Mellstrom et Boman, 2004 ; Mellstrom *et al.*, 2004). Les essais de perméation de ce type sont décrits dans la prochaine section.

## 2.5 Analyses de perméation de contaminants par cellules de diffusion

Les cellules de diffusion ont été développées pour mesurer l'absorption et la sécrétion de composés chimiques à travers des échantillons de tissus provenant de la paroi intestinale (Heylings, 2014 ; Ussing et Zerahn, 1951). L'appareil a ensuite été adapté à la peau. Thomas J. Franz a procédé à la première expérience précise de ce type, et pour cette raison, ce dispositif porte désormais son nom (Franz, 1975 ; Heylings, 2014). Les cellules de diffusion de type Franz ont été rapidement acceptées dans le domaine pharmaceutique pour tester la libération de médicaments à travers la peau. Cette technologie a rapidement remplacé plusieurs tests de libération de médicaments jusque-là effectués *in vivo* (Pendlington, 2008). Rapidement, cette méthode a été adaptée à l'analyse du risque d'exposition cutané à différents contaminants. Désormais, des tests aussi variés que la perméation de produits pharmaceutiques, d'agents de chimiothérapie et de pesticides à travers la peau sont effectués au moyen de cellules de Franz. Les cellules de diffusion ont également été utilisées dans l'industrie cosmétique pour évaluer l'efficacité des formulations semi-solides (ASTM International F2130-11[2018], 2018 ; Heylings, 2014). L'utilisation répandue des cellules de diffusion de type Franz a ouvert la voie au développement de plusieurs variantes, dont la technologie proposée dans le présent rapport. Les prochaines pages présentent les fondements du concept et les principes sous-jacents aux analyses par cellules de diffusion de type Franz.

Deux méthodes ont été proposées par l'ASTM pour mesurer le passage de contaminants chimiques à travers les gants en utilisant des cellules de diffusion. Ces méthodes ont été développées pour la première fois en 1981 et ont été mises à jour plusieurs fois au fil des ans. Le premier protocole est l'ASTM F379, qui est utilisé pour tester la perméation de produits chimiques à travers une membrane polymérique dans des conditions d'exposition continue (ASTM International F739-20, 2020b). Le second est ASTM 1383 qui teste la perméation de produits chimiques à travers les membranes polymériques dans des conditions d'exposition intermittente (ASTM International F1383-20, 2020c). La norme ISO 6529, mise à jour en 2013, utilise également les mêmes cellules de diffusion pour tester la perméation d'un contaminant chimique à travers une membrane polymérique (ISO 6529:2013, 2013). La norme ISO est divisée en trois modules : le module A traite de l'exposition continue aux matériaux gazeux ; le module B traite de l'exposition continue aux matières liquides ; le module C traite de l'exposition intermittente aux matières liquides ou gazeuses.

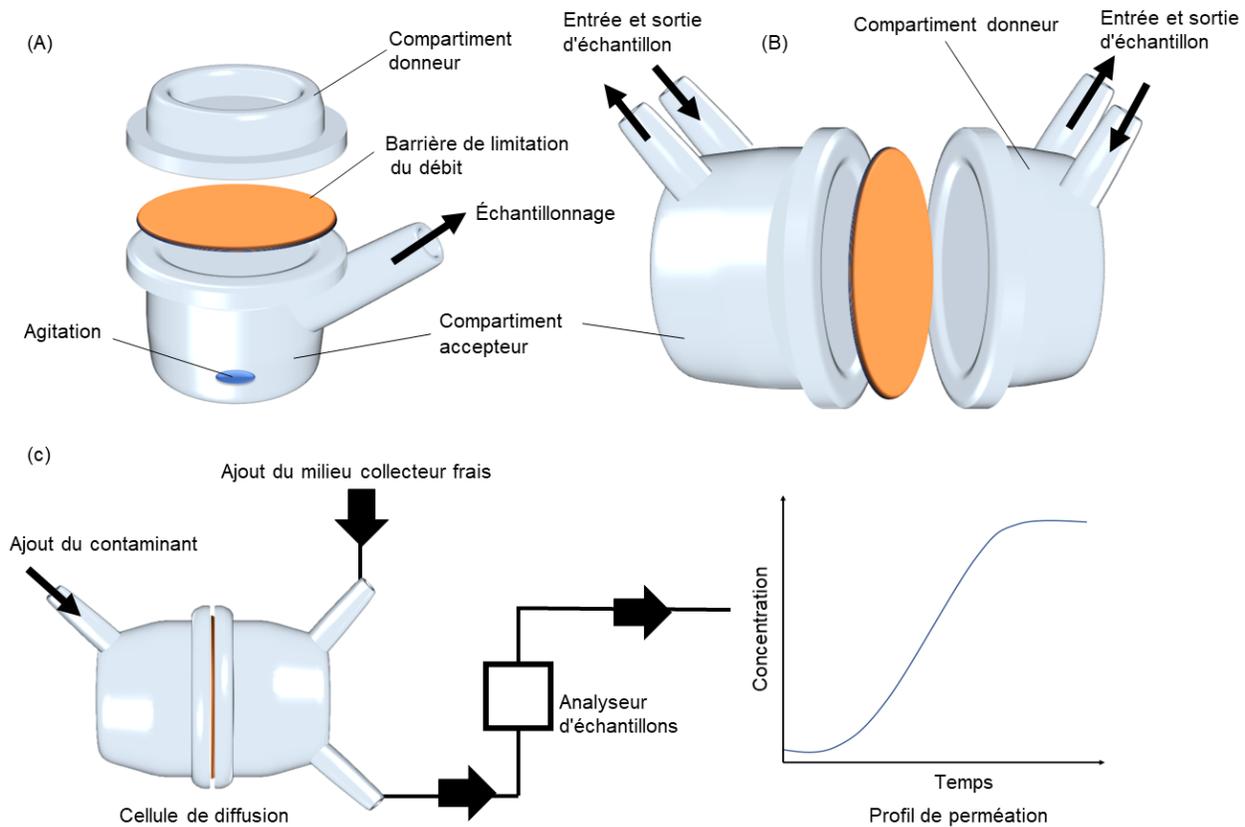
Des schémas de cellules de type Franz sont fournis à la figure 2. La concentration en contaminants « perméants » est mesurée dans le milieu collecteur soit en continu ou de façon ponctuelle selon les contaminants d'intérêt et les techniques analytiques disponibles. De ces expériences sont tirées principalement deux valeurs quantifiant la résistance chimique de la membrane :

- Le **flux de perméation**, représentant la masse de contaminants ayant traversé la membrane par unité de surface et par unité de temps (ex. en  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$ ) ;
- Le **temps de passage du contaminant**, qui est le temps à partir duquel le contaminant est détecté dans le milieu collecteur. Plus ce temps est long, plus le matériau est résistant. La détermination de ce temps de passage dépend de la limite de détection des techniques analytiques utilisées. La comparaison des résultats obtenus par des laboratoires différents dépend de la justesse de cette mesure. On peut aussi utiliser le **temps de passage normalisé**, qui est le moment où le flux (taux) de perméation normalisé est atteint.

Les normes ASTM F739, EN ISO 16523-1 ou encore ISO 6529 décrivent les principales méthodes d'essais de mesure de perméation (ASTM International F739-20, 2020b ; CEN EN 16523-1:2015, 2015 ; ISO 6529:2013, 2013). Elles font appel à des cellules de perméation différentes et proposent un flux de perméation normalisé différent pour définir le temps de passage normalisé. Alors qu'il est de  $1 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$  pour les méthodes ISO, il est de  $0,1 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$  pour la méthode ASTM. Plus récemment, le groupe ASTM International a proposé un protocole particulier pour évaluer la résistance des gants médicaux aux médicaments chimiothérapeutiques (ASTM International D6978-05[2019], 2019a). Il fixe un nombre minimal de molécules à tester, une température de  $35 \text{ }^\circ\text{C}$  (contre  $23 \text{ }^\circ\text{C}$  dans l'EN ISO 16523-1 et  $27 \text{ }^\circ\text{C}$  pour la norme ASTM F739), et un flux de perméation normalisé de  $0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$  pour déterminer le temps de passage normalisé.

## Figure 2. Schémas de cellules de diffusion de type Franz.

(A) Cellule de diffusion typique utilisée pour les formulations topiques (crèmes, gouttes oculaires, etc.). (B) Représentation d'une cellule typique des études toxicologiques, pour tester la perméation des molécules à travers des membranes naturelles (ex. la paroi intestinale). (C) Représentation schématique d'un test de perméation : cellule de diffusion, échantillonnage, analyse et représentation graphique des données (profil de perméation-type).



Le processus de perméation réfère à la diffusion d'un perméant à travers une barrière limitant son débit (Pugh et Chilcott, 2008). Un profil de perméation, ou profil de diffusion, est un tracé de la quantité cumulée d'un perméant pénétrant à travers une barrière limitant sa vitesse de propagation, en fonction du temps. En tenant compte des différents types de cellule de diffusion, de la méthode d'échantillonnage et de la quantité de perméant capable de diffuser au travers des membranes, plusieurs modèles sont utilisés pour décrire la perméation :

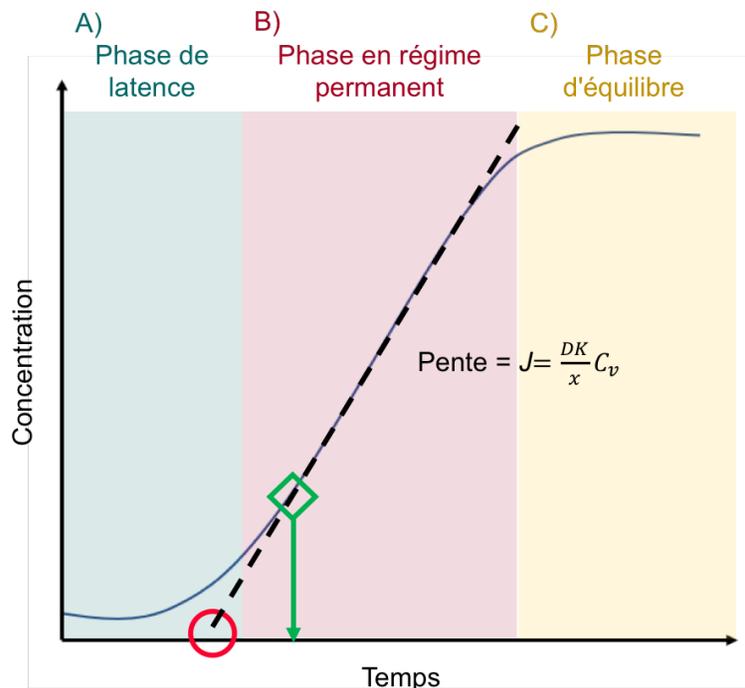
- Modèle de **dose infinie** ou **pseudo-infinie** pour lequel le gradient de concentration au sein de la membrane reste constant une fois que le régime permanent est atteint.
- Modèle de **dose finie** pour lequel le gradient de concentration change continuellement au cours du temps afin d'atteindre un équilibre entre les concentrations dans le compartiment donneur et la membrane.

Dans le cadre de ce manuscrit, en raison des faibles quantités de perméant rejoignant le compartiment accepteur lors de la perméation au travers des gants, nous décrivons exclusivement le modèle de dose pseudo-infinie.

La figure 3 représente un profil de perméation à partir duquel différents paramètres peuvent être extraits. Dans ce tracé, trois zones distinctes sont identifiables : (1) la phase de latence au cours de laquelle la concentration cumulée en perméant évolue de façon non linéaire. Lors de cette phase, il s'établit progressivement un équilibre des interactions perméant-membrane ; (2) la phase de régime permanent au cours de laquelle la concentration cumulée en perméant évolue de façon linéaire ; (3) la phase d'équilibre au cours de laquelle un équilibre de concentration est atteint entre les différents compartiments. Les prochains paragraphes traitent des principes analytiques permettant l'extraction des différents paramètres. Ces principes s'appliquent aux mesures de perméation des contaminants à travers les membranes de polymère (Pugh et Chilcott, 2008).

**Figure 3. Exemple de profil de perméation à dose infinie**

A) phase de latence ; B) phase de perméation en régime permanent, où la quantité de perméat passant par unité de temps est constante. La pente de l'état stationnaire est utilisée pour calculer l'afflux en régime permanent ( $J_{ss}$ ). Le temps de latence est souvent calculé par extrapolation linéaire de la droite du régime permanent vers l'axe des x ; C) phase d'équilibre des concentrations entre les deux compartiments.



### 2.5.1 Première loi de la diffusion de Fick

La diffusion est définie comme le mouvement moléculaire aléatoire par lequel les molécules passent d'une zone de concentration élevée à une zone de concentration plus faible. Le premier modèle mathématique de diffusion a été établi au XIX<sup>e</sup> siècle par Fourier (Fourier, 1878/2009). Il a été démontré que le flux d'énergie thermique ( $J_{\text{énergie}}$ ) est proportionnel au changement de température ( $\delta T$ ) sur le changement d'épaisseur ( $\delta x$ ), selon une constante linéaire ( $K_{lc}$ ) (Pugh et Chilcott, 2008) :

$$J_{\text{énergie}} = -K_{lc} \frac{\delta T}{\delta x} \quad \text{Équation 1}$$

Cette équation a ensuite été adaptée par Fick pour établir la première loi de diffusion moléculaire représentée comme suit (Michaels *et al.*, 1975 ; Pugh et Chilcott, 2008) :

$$J = -D \frac{\delta C_M}{\delta x} \quad \text{Équation 2}$$

où  $\delta C_M / \delta x$  correspond au gradient de concentration du perméant selon l'épaisseur de la membrane.  $D$  correspond au **coefficient de diffusion** du perméant dans la membrane et définit la mobilité du perméant dans la membrane.  $D$  dépend de la forme, de la taille et de l'interaction moléculaire du perméant avec la barrière.

La première loi de Fick suppose que l'épaisseur est équivalente à la longueur réelle du trajet du produit chimique dans les gants ou la peau (Benson, 2011 ; Hadgraft et Guy, 2002). Habituellement, le processus de perméation peut être décrit en trois étapes : premièrement, le perméant quitte le véhicule (c'est-à-dire le fluide dans le compartiment donneur) et trouve un chemin à travers la membrane ; deuxièmement, le perméant diffuse à travers la membrane ; puis, l'agent perméant atteint le milieu de collecte dans le CA. Dans les mesures pharmaceutiques, le temps nécessaire pour que le produit chimique de perméation apparaisse de l'autre côté du compartiment accepteur est appelé **temps de latence ( $\tau$ )**. Ce paramètre est important pour identifier le début de l'action des médicaments ou les effets de toxicité dans le cas de substances dangereuses. Le temps de latence dépend de l'épaisseur de la membrane, de la surface de perméation exposée au produit chimique, des interactions entre le contaminant et la membrane ainsi que du montage expérimental (Mellstrom *et al.*, 2004 ; Pugh et Chilcott, 2008). La précision de la détermination du temps de latence dépend de la sensibilité de la technique analytique : plus la technique analytique est sensible, plus la mesure est précise. Dans la plupart des cas, la limite de détection d'un instrument doit être suffisamment basse pour pouvoir mesurer les taux de perméation normalisés par les agences de réglementation, soit  $0,1 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$  (ASTM International F739-20, 2020b ; Mellstrom *et al.*, 2004).

### **Point méthode**

Le temps de latence ( $\tau$ ) est déterminé en extrapolant sur l'axe des abscisses, la portion linéaire de la phase de régime permanent. Ce point est représenté par le cercle rouge sur la figure 3.

À partir du temps de latence avant le début de la perméation en régime permanent, le coefficient de diffusion peut être calculé en utilisant l'équation 3 :

$$D = \frac{x^2}{6\tau} \quad \text{Équation 3}$$

où  $x$  correspond à l'épaisseur de la membrane et  $D$  correspond au coefficient de diffusion.

### **2.5.2 Activité thermodynamique**

Dans un modèle simple de diffusion, on suppose que la force motrice de la diffusion moléculaire est le gradient de concentration (Pugh et Chilcott, 2008). Cependant, cela ne prend pas en compte l'interaction des molécules de perméant avec d'autres molécules présentes dans le véhicule liquide. Ce facteur peut affecter la diffusion des molécules dans une membrane. Par exemple, une substance lipophile dissoute dans un milieu aqueux diffusera dans un milieu lipophile même à l'encontre d'un gradient de concentration. La force motrice dans cette situation est l'interaction moléculaire entre les molécules lipophiles favorisant leur diffusion dans les milieux lipophiles. C'est ce qu'on appelle la fugacité moléculaire, un concept dans lequel la diffusion d'une molécule est basée sur son gradient thermodynamique plutôt que sur son gradient de concentration (Pugh et Chilcott, 2008). La fugacité moléculaire s'exprime en termes d'activité thermodynamique ( $\alpha$ ) et est égale au produit de la concentration moléculaire et du coefficient d'idéalité moléculaire ( $\gamma$ ). Dans des solutions idéales,  $\gamma = 1$  et l'activité thermodynamique est égale à la concentration.

À une même concentration moléculaire, des solutions d'activité thermodynamique différente ne pourraient pas être interprétées par la première loi de Fick. Pour éviter cela, la première loi de Fick peut être utilisée avec précision dans deux scénarios (Pugh et Chilcott, 2008). Premièrement, en utilisant une solution saturée (dose infinie) du composé dans les deux véhicules ; dans ce cas,  $\alpha$  est égal à 1 dans les deux solutions. Deuxièmement, si les concentrations utilisées sont faibles, l'impact de l'activité thermodynamique sera minimal. En résumé, la première loi de Fick est utilisée pour des doses infinies ou encore pour des perméants présents à faible concentration (Pugh et Chilcott, 2008). Cette condition prévaudra dans la majorité sinon la totalité des expériences réalisées dans ce projet de recherche impliquant des molécules radioactives et des nanoparticules d'or (Au NP) radiomarquées.

La première loi de Fick, décrite par l'équation 2, exprime le flux du perméant en fonction de son gradient de concentration qui n'est pas homogène le long de l'épaisseur de la membrane. Toutefois, il est possible d'assumer une variation de concentration macroscopique linéaire ( $\Delta C_M$ ) entre les deux extrêmes de l'épaisseur  $h$  de la membrane. Le flux peut être reformulé en utilisant la relation suivante :

$$J = -D \frac{\delta C_M}{\delta x} \cong -D \frac{\Delta C_M}{h} \quad \text{Équation 4}$$

Si la concentration en perméant dans le compartiment accepteur reste égale ou proche de zéro, ou encore, si l'on se trouve dans les tout premiers instants de la perméation, il est possible d'exprimer le flux  $J$  en fonction de la concentration en perméant dans la membrane ( $C_M$ ) par la relation suivante :

$$J \cong D \frac{C_M}{h} \quad \text{Équation 5}$$

Toutefois, la concentration  $C_M$  est un paramètre difficile à déterminer expérimentalement avec les méthodes usuelles. Il est plus commode d'exprimer ce flux en fonction de la concentration dans le compartiment donneur  $C_{CD}$ , en introduisant une nouvelle notion, la **perméabilité spécifique de la membrane  $\bar{P}$**  :

$$J = \bar{P} \frac{C_{CD}}{h} \quad \text{Équation 6}$$

À partir des équations 5 et 6, la perméabilité spécifique peut être exprimée par la relation :

$$\bar{P} = D \frac{C_M}{C_{CD}} = KD \quad \text{Équation 7}$$

où  $K$  représente de **coefficient de partition** du perméant entre la membrane et la solution dans le compartiment donneur. Quand une solution contenant un perméant est mise en contact avec une membrane, une migration du perméant a lieu jusqu'à ce qu'un équilibre entre la  $C_{CD}$  du perméant dans la solution et la concentration du perméant dans la membrane  $C_M$  soit atteint. Le rapport entre ces deux concentrations est appelé le coefficient de partage et est défini mathématiquement par (Pugh et Chilcott, 2008) :

$$K = \frac{C_M}{C_{CD}} \quad \text{Équation 8}$$

Si  $K$  et  $D$  sont indépendants de la concentration initiale en perméant, alors l'équation 6 montre que le flux transmembranaire est dépendant de la concentration initiale dans le compartiment donneur. Toutefois, la notion de perméabilité spécifique est une notion relativement ambiguë qui ne dépend pas uniquement des propriétés du perméant et de son interaction avec la membrane, mais qui dépend également de la nature du solvant.

Ainsi, le **flux maximal du perméant** ( $J_{max}$ ), est un paramètre plus facilement exploitable et peut être défini à partir de l'activité thermodynamique. En considérant l'activité du perméant dans la membrane comme le ratio entre sa concentration et sa solubilité maximale au sein de la membrane ( $a = C/C^*$ ),  $J_{max}$  décrit le flux du perméant lorsqu'un équilibre de concentration est atteint au sein de la membrane, c'est-à-dire lorsque que la solubilité maximale en perméation dans la membrane ( $C_M^*$ ) est atteinte :

$$J_{max} = \bar{P} \frac{C_{CD}^*}{h} = D \frac{C_M^*}{h} \quad \text{Équation 9}$$

où  $C_M^*$  et  $C_{CD}^*$  représentent, respectivement, la solubilité maximale en perméant dans la membrane et dans le compartiment donneur.

Toutefois, des interactions entre le perméant et la membrane ou encore entre le perméant et les parois de la cellule de diffusion peuvent survenir, conduisant à un comportement non idéal. Afin de minimiser ces effets, il est préférable de travailler avec des concentrations plus faibles et d'exprimer le flux maximal en fonction de la concentration en perméant dans le compartiment donneur ( $C_{CD}$ ) et du coefficient de partition  $K$ , en utilisant la relation exprimée par l'équation 10. Dans le cadre d'un modèle de dose pseudo-infinie, le flux maximal est communément appelé **flux en régime permanent** et est noté  $J_{ss}$  :

$$J_{ss} = \frac{KDC_{CD}}{h} \quad \text{Équation 10}$$

### Point méthode

Le flux en régime permanent ( $J_{ss}$ ) peut être déterminé graphiquement. Ce paramètre correspond au coefficient directeur de la portion linéaire de la phase de régime permanent sur la figure 3 (ligne en pointillés).

Le flux moyen en régime permanent ( $\bar{J}_{ss}$ ) peut également être calculé par la relation suivante :

$$\bar{J}_{ss} = \frac{C_i - C_{i-t}}{T_i - T_{i-t}} \quad \text{Équation 11}$$

où  $C_i$  et  $C_{i-t}$  correspondent aux concentrations en perméant aux instants  $T_i$  et  $T_{i-t}$  respectivement.

Enfin, le flux total moyen ( $\bar{J}_T$ ), qui correspond à la cinétique de transport du perméant tout au long de l'expérience, peut être calculé par la relation suivante :

$$\bar{J}_T = \frac{\int_0^j \frac{dC_i}{dT_i}}{A} \quad \text{Équation 12}$$

où  $\bar{J}_T$  correspond au flux total moyen,  $C_i$  à la concentration en perméant à l'instant  $T_i$ ,  $j$  à la durée totale de l'expérience et  $A$  à l'aire de la surface de la membrane.

## 2.6 Étude du passage des NP à travers une membrane par cellules de diffusion

Des NP constituées d'une variété d'éléments chimiques sont désormais intégrées dans plusieurs produits pharmacologiques et cosmétiques. Par exemple, des NP à base de titane, de zirconium, de zinc, ou d'or sont couramment utilisées afin de livrer soit des ingrédients actifs, soit des agents thérapeutiques à la peau ou par la peau (Mota *et al.*, 2017 ; Palmer et DeLouise, 2016 ; Schneider *et al.*, 2009). Le développement des nanotechnologies et l'intégration croissante de NP dans les produits de consommation courante ou pour certaines applications médicales ont conduit à l'énoncé de plusieurs recommandations encourageant le port de gants comme barrière à l'exposition cutanée (Kosk-Bienko, 2009 ; NIH, 2014 ; Ostiguy *et al.*, 2014). En parallèle, tant le Centre canadien d'hygiène et de sécurité au travail, que l'Agence européenne pour la sécurité et la santé au travail, que la Division of Occupational Health and Safety du NIH (É.-U.) ont souligné le manque de données actuelles concernant l'efficacité des gants de protection contre les NP (CSA, 2012 ; NIH, 2014). Un examen de la littérature confirme que les connaissances actuelles sont limitées. Tout d'abord, dépendamment de leur taille et du matériau, les NP pourraient passer à travers les membranes polymères par pénétration et/ou par perméation. La nature du mécanisme expliquant le passage des NP à travers les membranes polymères n'a pas encore été entièrement élucidée et dépend vraisemblablement de facteurs variés (taille, morphologie, nature chimique et charge électrostatique à la surface).

Ensuite, les NP les plus investiguées dans le cadre d'études portant sur la mesure de leur perméation à travers les membranes polymères sont celles formées de dioxyde de titane ( $\varnothing=15$  nm), d'or ( $\varnothing=50$  nm) et d'argent ( $\varnothing=21$  nm) (Trbojevich *et al.*, 2016 ; Vinches *et al.*, 2013 ; Vinches *et al.*, 2015). Leur passage à travers des membranes de différentes épaisseurs a été étudié pour les élastomères nitrile, butyle, néoprène ou latex, puis pour du polyéthylène haute densité et des membranes cellulosiques poreuses. En fait, la grande majorité des résultats de recherche sur le passage des NP à travers les gants a été obtenue en utilisant une cellule d'essai différente de celles recommandées dans les normes utilisées pour la mesure de la perméation ou la pénétration (Dolez *et al.*, 2010 ; Vinches *et al.*, 2012 ; Vinches *et al.*, 2013 ; Vinches *et al.*, 2014 ; Vinches *et al.*, 2015). Or, le développement d'une cellule adaptée, différente de celle préconisée par les normes, était nécessaire afin de permettre la mesure du passage des NP à travers des gants soumis à une déformation mécanique, statique ou dynamique.

Il est apparu que la déformation favorise le passage des NP de dioxyde de titane et d'or, et que le solvant dans lequel les NP sont en suspension devrait être compatible avec le matériau du gant pour éviter le gonflement du polymère, et l'entraînement des NP dans son sillon (Vinches *et al.*, 2014). Trbojevich *et al.* (2016) ont pu mettre en évidence le passage de NP d'argent à travers des membranes cellulosiques poreuses et hydrophiles

avec un système de détection basé sur la spectroscopie par UV grâce à l'utilisation de cellules de Franz et de cellules « side-by-side ». Dans le cas de membranes de polyéthylène (16 et 120 µm d'épaisseur), l'utilisation du rayonnement UV et de l'ICP-MS pour détecter les NP n'a pas permis de démontrer de passage.

Il faut ajouter que l'une des principales stratégies en pharmacologie pour augmenter la perméation des NP à travers la peau consiste à réduire la taille des colloïdes pour faciliter leur pénétration (Filon *et al.*, 2015). Certaines études ont clairement montré que la pénétration des petites NP (40 nm de diamètre) à travers la peau était de 1,5 fois plus efficace que celle de leurs homologues de plus grande taille (130 nm de diamètre) (Shim *et al.*, 2004). Cet effet de taille a été attribué à une absorption facilitée en fonction de la surface spécifique des NP (Huff *et al.*, 2007). Des NP ultra-petites (*ultra-small* NP; <20 nm) de différents types et compositions sont de plus en plus utilisées pour des applications biomédicales, dont les applications topiques : polymères, nanoparticules solides-lipides, particules de protéines, liposomes, particules minérales, nanotubes de carbone et NP métalliques (Palmer et DeLouise, 2016 ; Schneider *et al.*, 2009). Leur petite taille garantit généralement des taux de pénétration élevés dans les membranes biologiques et synthétiques. Leur omniprésence dans différents domaines de la recherche et de la santé, requiert désormais le développement de techniques de mesure de perméation en temps réel et à haute sensibilité.

Ainsi dans les études utilisant la peau comme membrane biologique, Baroli *et al.* (2007) ont étudié la perméation des NP métalliques à l'aide d'une cellule de diffusion Franz couplée à un système ICP-AES/OES. La concentration de NP dans le compartiment accepteur était inférieure aux limites de détection du système ICP-AES/OES. Cependant, la présence de NP a été détectée au microscope dans les échantillons de peau testés. Dans un article publié en 2008, Sonavane *et al.* ont étudié, à l'aide de cellules de Franz, la perméation des NP d'Or (15, 102, 198 nm) à travers la peau de rat pendant une période de 24 heures. Les NP ultra-petites (15 nm) ont montré une perméation plus grande, et des études de microscopie électronique ont confirmé l'accumulation de ces particules de plus petite taille dans les régions plus profondes de la peau. Les particules plus grosses ont été observées dans l'épiderme et le derme. Dans ces études, aucun temps de latence n'avait été révélé pour les NP de 15 nm, alors que le diamètre de 198 nm a montré un temps de latence de 6 h. En 2010, Seto *et al.* ont étudié la perméation de NP d'or ultra-petites ( $4,6 \pm 1,5$  nm) à travers des peaux humaines et porcines en utilisant une combinaison d'ultrasons et de tensioactif laurylsulfate de sodium. Ces études ont conclu que le derme peut agir comme un réservoir de NP. En 2011, Larese Filon *et al.* ont réalisé des études de diffusion avec des NP d'or ultra-petites (12,9 nm de diamètre) en utilisant des cellules de Franz et des échantillons de peau humaine. Des AuNP ont été trouvés dans la solution réceptrice des cellules de Franz après 24 h d'exposition cutanée. Un temps de latence d'une heure seulement a été révélé. En utilisant la microscopie électronique à transmission (MET), l'accumulation des NP d'or a été trouvée à la fois dans l'épiderme et dans le derme, ce qui confirme que les NP pénétrant dans la peau peuvent rejoindre le système vasculaire sous-jacent. La

perméation des NP ultra-petites à travers la peau humaine s'est avérée dépendante de la dose (Filon *et al.*, 2011). Dans les travaux de Larese Filon et ses collègues (2011), la concentration d'Or dans le compartiment accepteur a été mesurée par ICP-MS, une technique de haute sensibilité parmi les modalités d'analyse élémentaire (c.-à-d. des éléments chimiques). Cependant, un profil de perméation net n'a pas pu être révélé en raison de la sensibilité insuffisante de la technique de détection.

En bref, un nombre très limité d'articles ont rapporté de manière quantitative la cinétique de perméation des NP de taille ultra-petite à travers la peau et les membranes polymériques, principalement en raison d'un manque de techniques de détection sensibles pour les mesurer en temps réel dans les cellules de diffusion de type Franz. La mesure du passage des NP métalliques ultra-petites à travers les membranes biologiques et polymériques doit faire l'objet d'études approfondies. Cependant, les technologies de mesure actuelles permettant de suivre la présence de concentrations de NP métalliques dans les compartiments d'une cellule de type Franz sont associées à plusieurs limites et contraintes. Il existe donc un besoin réel pour le développement de technologies de mesure plus sensibles et en continu. Dans le présent projet, les NP ultra-petites à base d'or ont été choisies en raison de leur utilisation dans plusieurs procédures médicales, ainsi que pour le risque accru de leur passage à travers les gants.

## **2.7 Technologies de mesure du passage des NP à travers les membranes par cellules de diffusion**

Le développement d'une méthode normalisée permettant de mesurer le pouvoir barrière des gants contre les NP apparaît prématuré. En effet, les stratégies actuelles d'expérimentation et d'analyse du milieu collecteur ne permettent pas encore de déterminer des temps de passage précis et de calculer des flux de perméation normalisés pour des NP en solution passant à travers des membranes. La limite prédominante à l'étude du passage des NP au travers de membranes se situe non pas nécessairement dans la configuration de la cellule, mais dans les techniques analytiques actuelles trop faiblement sensibles, ou inadaptées pour détecter en continu la présence de tels contaminants à de faibles concentrations.

Pour mesurer la perméation des solvants à travers les membranes, la chromatographie en phase gazeuse couplée à différents détecteurs est la technique la plus largement utilisée. Cependant, cette technique ne peut pas être utilisée pour la détection des NP. Les principales techniques analytiques utilisées pour mesurer le passage de molécules contenues dans des solutions liquides comprennent la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), la spectroscopie par rayonnement UV visible et la spectrométrie de masse, couplées ou non à la chromatographie en phase liquide. Ces technologies sont énumérées dans le tableau 2.

En ce qui a trait aux mesures de la perméation de NP métalliques à travers la peau et les membranes polymériques, jusqu'à présent différentes techniques ont été utilisées :

microscopie optique ou électronique (Khabir *et al.*, 2019 ; Kraeling *et al.*, 2018 ; Larese *et al.*, 2009), spectrométrie de fluorescence X (Mahmoud *et al.*, 2018), spectrométrie de masse par plasma inductif (ICP-MS) (Kraeling *et al.*, 2018), spectrométrie d'émission atomique par plasma à couplage inductif (ICP-AES/OES) (Baroli *et al.*, 2007), spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif par ablation laser (LAICP-MS) (Mahmoud *et al.*, 2017). La plupart de ces techniques ne peuvent pas être directement couplées à des cellules de diffusion de type Franz pour mesurer en temps réel le passage des NP à travers la peau ou les membranes. Certaines, dont l'ICP-MS et l'ICP-AES/OES, ont une sensibilité trop limitée. La limite de détection (LOD) est définie comme étant la plus faible concentration de perméant pouvant être détectée par une technique analytique donnée et elle est utilisée comme indication de la sensibilité de la mesure (Dong, 2006 ; Thomsen *et al.*, 2003). La limite de quantification (LOQ), qui représente la concentration la plus faible mesurée aux niveaux les plus bas d'exactitude, de précision et de reproductibilité, est un autre indicateur. Avec l'ICP-MS, ou l'ICP-AES/OES, ces deux limites (LOD et LOQ) sont en général trop élevées pour permettre des mesures en continu du passage des NP à travers les membranes. Chacune des caractéristiques principales des techniques analytiques est décrite dans le tableau 2.

**Tableau 2. Comparaison des techniques analytiques les plus couramment utilisées pour la mesure des contaminants dans les cellules de Franz**

	<b>FTIR*</b> (Griffiths et de Haseth, 2006)	<b>HPLC (UV)**</b> (Colombo <i>et al.</i> , 2017 ; Kazakevich, 2006 ; Lunn, 2005)	<b>ICP-MS***</b> (Brenner, 2016 ; Vanhaecke, 2012)
Mécanisme de détection	Absorption de rayonnement infrarouge passant à travers un analyte, engendrée par une vibration des groupements et des liaisons moléculaires	Absorption de photons passant à travers un analyte ; technique souvent couplée à la chromatographie pour la séparation moléculaire	Ionisation d'éléments métalliques dans un plasma, suivie d'une mesure par spectrométrie de masse
Sensibilité	++	+++	++++
Limite de détection (LOD)	Quelques ng sous forme solide ; cependant, la LOD décroît rapidement lorsqu'utilisée pour des mélanges. Exemples : C=O (~7 µg/mL) et cycles benzéniques (26 µg/mL)	Dépend fortement de l'échantillon, de sa préparation et de la colonne de séparation employée. Exemple : abacavir (0,075 µg/mL)	Dépend de la préparation de l'échantillon, de la matrice liquide et de l'instrument. 0,000 5 – 0,1 µg/mL pour des métaux lourds comme Au et Zr
Préparation des échantillons	Facile	Facile	Laborieux
Mesures en continu	Oui	Non	Non
En ligne	Oui	Non	Non

\* FTIR : spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier,

\*\* HPLC (UV) : chromatographie en phase liquide à haute pression, avec détecteur de rayons UV,

\*\*\* ICP-MS : spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif.

## 2.8 Limites analytiques des techniques spectroscopiques et spectrométriques pour les mesures de perméation des NP métalliques à travers les gants

Park *et al.* (2011) ont étudié la perméation de NP d'argent en solution à travers des gants en utilisant la spectroscopie d'émission atomique par plasma à couplage inductif (ICP-AES/OES). En théorie, pour les ions d'argent, cette technique analytique permettrait d'atteindre une LOD de 5 µg/L (Nelms, 2005). Cependant, l'étude n'a pu détecter la perméation de NP d'argent dans le compartiment accepteur. D'autre part, Vinches *et al.* (2015) ont étudié par cellule de diffusion la perméation de NP d'or de 50 nm à travers des gants en nitrile à l'aide de la spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif (ICP-MS), une technique permettant d'atteindre une LOD de 0,000 5 µg/L dans certaines conditions (Nelms, 2005 ; Vinches *et al.*, 2015). Cependant, l'étude n'a pas permis de détecter des NP d'or dans le compartiment accepteur et a révélé une LOD de 0,048 µg/L, soit 100 fois supérieure à la limite théorique de l'ICP-MS rapportée dans la littérature.

C'est seulement en stimulant mécaniquement les membranes pendant une période de 3 heures, qu'une certaine teneur en NP d'or a pu être détectée dans le milieu collecteur. Par la suite, Vinches *et al.* (2016) ont publié un deuxième article comparant la perméation de NP d'or de 5 et 50 nm à travers des gants, les plus petites particules étant associées à un passage plus important. Cependant, en raison de la LOD trop élevée de l'ICP-MS, le groupe n'a pas pu facilement reproduire les résultats d'un test à l'autre. Ainsi, les techniques de mesure d'éléments chimiques telles l'ICP-AES/OES et l'ICP-MS, couramment utilisées pour la mesure des teneurs en éléments métalliques de solutions, ne permettent pas de révéler avec précision, sensibilité et en continu, le passage de NP métalliques à travers les membranes polymères.

## 2.9 Méthodes utilisant la radioactivité dans les tests de perméation

Le radiomarquage de molécules et de NP permet d'employer des techniques de détection de radioisotopes très sensibles. Des études de perméation réalisées avec des cellules de Franz ont déjà utilisé les radioisotopes  $^3\text{H}$  et  $^{14}\text{C}$  (Pendlington, 2008). Cependant, ces radioisotopes ne permettent pas de mettre en image les processus de diffusion impliquant les radioisotopes, par exemple par technologies d'imagerie médicale. Quelques articles ont décrit le radiomarquage dans des expériences de perméation avec cellules de Franz. Les laboratoires de radioisotopes sont largement répandus dans les centres de recherche, les universités, et les milieux hospitaliers et notamment dans les cliniques de médecine nucléaire. Le tableau 3 résume les différentes techniques de mesure les plus courantes dans les cliniques de médecine nucléaire.

Pollack (1977) a été le premier à étudier la perméation de radioisotopes dans des cellules de Franz en utilisant du  $^{33}\text{Xe}$  à travers une peau de grenouille et un septum en caoutchouc comme membrane. Comme détecteur, l'équipe a utilisé un cristal de NaI (TI) couplé à des photomultiplicateurs pour détecter le rayonnement gamma (Pollack, 1977). Koprda *et al.* (2000) ont étudié la perméation de plusieurs éléments radioactifs  $^{137}\text{Cs}^+$ ,  $^{60}\text{Co}^{2+}$  et  $^{147}\text{Pm}^{3+}$  en solution aqueuse à travers la peau de rat. Ce groupe a eu recours à un détecteur gamma pour mesurer le processus de perméation à partir d'aliquotes prélevées à différents moments dans un compartiment accepteur. Mills *et al.* (2003) ont étudié la perméation d'éthanol, de butanol, d'hexanol et d'octanol marqués au  $^{14}\text{C}$  à travers la peau au moyen d'un compteur à scintillation. Plus récemment, Fabilli *et al.* (2013) ont étudié la perméation du [ $^{18}\text{F}$ ] fluorodésoxyglucose à travers une membrane de cellulose à l'aide d'un calibrateur de dose et des échantillons prélevés dans le compartiment accepteur.

Le principal avantage des mesures de radioactivité est leur sensibilité de détection, largement supérieure à celle des techniques de spectroscopie et d'analyse des éléments chimiques (Fabilli *et al.*, 2013). Cependant, elles présentent aussi plusieurs inconvénients. Premièrement, en raison de la saturation rapide des compteurs gamma et des détecteurs à scintillation solide (contenant généralement des détecteurs à cristaux NaI [TI]), les analyses nécessitent souvent de diluer les échantillons. Alternativement, les

échantillons prélevés peuvent être laissés en décroissance radioactive avant l'analyse, augmentant ainsi le temps d'analyse et compliquant les procédures dans leur ensemble (Chandra, 2012 ; Fabiilli *et al.*, 2013 ; Mills *et al.*, 2003). Deuxièmement, certaines techniques qui utilisent les compteurs à scintillation liquide nécessitent de collecter plusieurs échantillons dans le compartiment accepteur, puis de les diluer avec un volume connu de liquide de scintillation. Cette procédure est suivie de l'échantillonnage du mélange et de l'analyse avec l'analyseur à scintillation liquide (Fabiilli *et al.*, 2013 ; Mills *et al.*, 2003). Ces protocoles sont laborieux, difficiles à adapter pour de longs temps de perméation, en plus de déstabiliser la concentration dans le compartiment donneur, ou accepteur, ou les deux.

**Tableau 3. Différentes techniques impliquant la détection de rayonnement produit à partir de radioisotopes nucléaires\***

	Compteur Geiger-Muller	Chambre d'ionisation	SPECT (tomographie monophotonique)	TEP (tomographie par émission de positons)	Compteur à scintillation
Principe	Ionisation générée par des particules chargées passant dans l'air	Ionisation générée par des particules chargées passant dans un gaz	Photons $\gamma$	Photons $\gamma$ à 511 keV émis en coïncidence	Photons $\gamma$
Ordre de sensibilité	+	+	+++	+++++	+++++
Gamme de détection	+++++	++++	+++	+++	+
Mesure en continu	Oui	Non	Oui	Oui	Non
Automatique	Oui	Non	Oui	Oui	Non
Image générée	Non	Non	Oui	Oui	Non

\*Adapté de « Detection of high-energy radiation », par R. Chandra, 2012. *Nuclear medicine physics: The basics* (7<sup>e</sup> éd., p. 80-96). ©Lippincott Williams & Wilkins, 2012.

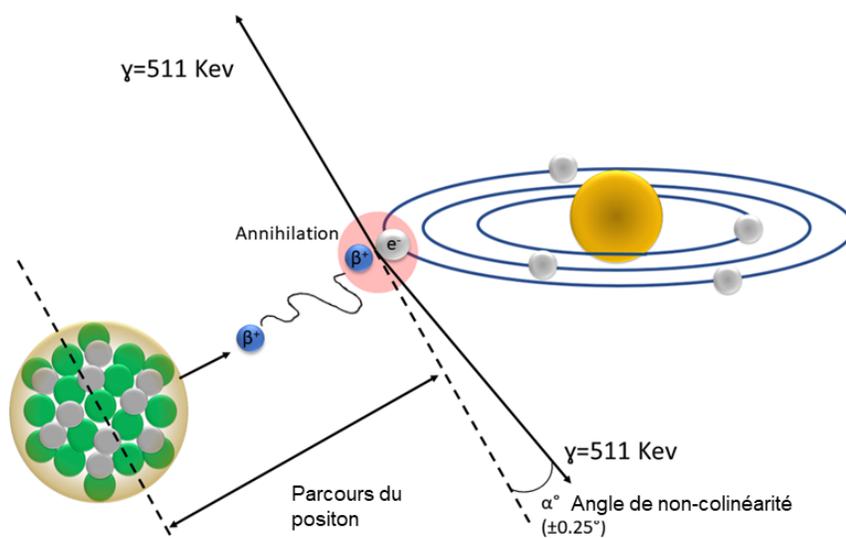
## 2.10 Tomographie par émission de positons (TEP)

La TEP est une technologie d'imagerie médicale permettant d'acquérir des images anatomiques ou géométriques tridimensionnelles (3D) à partir du signal émis par des radioisotopes émetteurs de positons (Granov *et al.*, 2013 ; Saha, 2016). En médecine moderne, la TEP est principalement utilisée pour les diagnostics du cancer au moyen de traceurs de métabolisme du glucose. Elle est aussi utilisée pour mesurer le flux sanguin dans certains organes, ainsi que pour étudier la densité de récepteurs neuronaux, ou la diffusion de différentes substances métaboliques. Les systèmes de TEP sont désormais largement répandus dans les centres hospitaliers. Il existe des systèmes de TEP pour les procédures cliniques, et des systèmes pour les expériences animales (précliniques), et en particulier pour les rongeurs (rat et souris). Il existe certaines différences conceptuelles entre les deux types d'appareils, mais celles-ci ne seront pas abordées dans ce rapport (Koprda *et al.*, 2000 ; Saha, 2016).

### 2.10.1 Principes de fonctionnement de la TEP

La technologie TEP utilise le rayonnement issu de la désintégration  $\beta^+$  de certains types d'atomes instables (Granov *et al.*, 2013 ; Saha, 2016). Dans ce mode de désintégration, un atome se désintègre en émettant un électron positif appelé positon (figure 4). Le positon éjecté parcourt une courte distance dans le matériau, le liquide, le spécimen biologique ou le sujet en y déposant son énergie. Ensuite, ce positon est capturé par un électron dans un processus appelé annihilation, au cours duquel l'électron et le positon se combinent pour se convertir en deux photons de 511 keV émis de façon co-linéaire dans des directions opposées ( $\sim 180^\circ$  l'un par rapport à l'autre). La détection synchrone de ces deux photons est à la base de l'imagerie TEP.

**Figure 4. Schéma du processus d'annihilation des positons.**



Un système de TEP est composé d'un lit mobile servant à insérer un patient, un animal, ou un spécimen, dans un système de détecteurs de rayonnements disposé sous forme annulaire. Un ordinateur connecté au système collecte les comptes radioactifs et identifie le plus précisément possible ceux qui sont émis de façon synchrone et colinéaire. Les données obtenues sont projetées sous forme de graphiques appelés sinogrammes. Une analyse informatique reconstruit ces sinogrammes sous forme d'images sous forme de coupes bidimensionnelles permettant une reconstruction en 3D (Granov *et al.*, 2013 ; Saha, 2016).

Le libre parcours moyen du positon, ou la distance moyenne que parcourt le positon dans la matière avant que celui-ci soit annihilé, dépend de l'énergie initiale de celui-ci, ainsi que de la densité du matériau qu'il traverse. Plus le libre parcours moyen des positons avant l'annihilation est court, plus le système TEP révélera des images de résolution élevée. Toutefois cette distance est limitée à tout au plus 0,7 mm selon les systèmes (Granov *et al.*, 2013 ; Saha, 2016). Les photons produits par le processus d'annihilation sont appelés photons de coïncidence et la projection en ligne droite de ces deux photons est appelée ligne de coïncidence. Dans un système TEP impliquant une procédure d'acquisition de données, le terme ligne de réponse (LOR ; « line of response ») est souvent utilisé pour décrire la ligne droite reliant les deux centres des détecteurs ayant détecté les deux photons de coïncidence.

En TEP, les détecteurs sont des cristaux à scintillation agencés sous forme d'anneaux ou de « barrettes ». Ces cristaux émettent de la lumière lorsqu'ils interagissent avec le rayonnement (Granov *et al.*, 2013 ; Saha, 2016). La lumière émise est ensuite collectée par un tube photomultiplicateur (PM), où elle est transformée en impulsion électrique et amplifiée. Le signal est ensuite traité et, s'il se situe dans la fenêtre d'énergie et de temps définie par le système, est enregistré en tant qu'événement « valide ». Tous les événements de coïncidence se produisant dans le volume imagé au cours d'une seule acquisition sont appelés « événements », ce qui inclut les événements vrais, dispersés, aléatoires et à coïncidences multiples. Une description approfondie de chacun de ces « événements » est disponible dans plusieurs manuels décrivant les principes et concepts de base de la TEP (Granov *et al.*, 2013 ; Saha, 2016).

Une fois l'acquisition d'image effectuée, les données sont stockées dans le sinogramme, qui est une matrice de tous les LOR détectés. L'ordinateur déploie le sinogramme afin de le reconstruire sous forme d'images (reconstruction d'image). Une fois l'image reconstruite, l'ordinateur stocke les données de l'acquisition dans un format standard appelé DICOM (*Digital Imaging and Communications in Medicine*). Outre le transport d'informations visuelles, les fichiers DICOM contiennent la méthode d'analyse y compris la position du lit, le temps d'acquisition, la fenêtre d'énergie, etc. (Granov *et al.*, 2013 ; Saha, 2016).

### 2.10.2 Éléments radioactifs émetteurs de positons

Très peu de radioisotopes émetteurs de positons sont disponibles commercialement, ou peuvent être produits sur un site hospitalier. La plupart des éléments utilisés en milieu clinique ont une courte demi-vie ( $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{18}\text{F}$  et  $^{15}\text{O}$ ) et ceux-ci ne peuvent être pris en considération pour des mesures s'étalant sur plusieurs heures comme requis par les tests de perméation (tableau 4). D'autre part, le radio-isotope  $^{89}\text{Zr}$  est un émetteur de positons dont la demi-vie d'environ 78,6 heures (3,3 jours) est compatible avec la durée des mesures de diffusion et avec les tests de perméation. Cependant, les ions de  $^{89}\text{Zr}$  ( $\text{Zr}^{4+}$ ) montrent une faible solubilité en milieu aqueux et ils ont tendance à former des oxydes insolubles en raison de leur nature oxophile (Abou *et al.*, 2011 ; Ekberg *et al.*, 2004). Afin de pallier cette contrainte, les ions de Zr (ex.  $\text{Zr}^{4+}$ ) doivent être chélatés par de petites molécules qui en augmentent la solubilité. Actuellement, il n'y a pas encore de chélate pour le  $^{89}\text{Zr}$  qui soit approuvé pour des procédures cliniques, mais plusieurs essais cliniques sont en cours en ce moment pour l'utilisation de  $^{89}\text{Zr}$  en imagerie TEP pour le cancer de la tête, du cou et du poumon (Abou *et al.*, 2011; Ekberg *et al.*, 2004; Heskamp *et al.*, 2017; van Loon *et al.*, 2017).

Un bref survol de la littérature scientifique récente révèle que le chélateur le plus largement utilisé pour l'ion  $\text{Zr}^{4+}$  est la déféroxamine B, ou « DFO ». Cette molécule contient trois groupes hydroxamate pouvant former six liaisons coordonnées avec le  $\text{Zr}^{4+}$  (Ma *et al.*, 2015). Le DFO est disponible commercialement et peut porter des groupes réactifs permettant de faciliter la greffe d'anticorps ou de NP. Une autre étude a rapporté l'utilisation de tétraazamacrocycles, aussi commercialement disponibles (Pandya *et al.*, 2017). Cependant, les conditions de chélation avec ce produit sont extrêmes (chauffage à 99 °C pendant deux heures), ce qui limite leur application pour le radiomarquage de molécules biologiques et de nanoparticules. Pour ces raisons, le choix du chélate pour le présent projet s'est porté sur le DFO.

**Tableau 4. Liste des principaux radioisotopes émetteurs de positons**

Radioisotope	T <sub>1/2</sub>	Énergie maximale des positons (β <sup>+</sup> E <sub>max</sub> )*
<sup>82</sup> Rb	75 secondes	3378
<sup>15</sup> O	122 secondes	1732
<sup>13</sup> N	10 minutes	1199
<sup>11</sup> C	20,4 minutes	960
<sup>68</sup> Ga	68 minutes	1880
<sup>18</sup> F	110 minutes	634
<sup>64</sup> Cu	13 heures	~656
<sup>86</sup> Y	15 heures	1221
<sup>79</sup> Br	16 heures	3382
<sup>89</sup> Zr	78 heures	902
<sup>124</sup> I	4,1 jours	1535
<sup>74</sup> As	17,7 jours	910

\*Adapté de « Physics of pure and non-pure positron emitters for PET: A review and a discussion », par M. Conti et L. Eriksson, 2016, *EJNMMI Physics*, 3(1), article 8. ©Springer, 2016; de « Positron gamma angular correlation measurements on decays of <sup>84</sup>Rb, <sup>74</sup>As, <sup>124</sup>I and <sup>102</sup>Rh », par A. de Beer, J. H. Stuijvenberg, B. Meindersma et J. Block, 1969, *Nuclear Physics A*, 138(2), p. 457-469. ©Elsevier, 1969; et de « Matching chelators to radiometals for radiopharmaceuticals », par E. W. Price et C. Orvig, 2014, *Chemical Society Reviews*, 43(1), p. 260-290. ©RCS, 2014.

### 3. OBJECTIF ET HYPOTHÈSE

#### 3.1 Objectif

L'objectif général de ce projet était de développer une nouvelle technologie et une nouvelle méthodologie à haute sensibilité pour mesurer le passage des NP à travers les membranes polymériques similaires à celles utilisées dans la fabrication de gants de protection.

Pour ce faire, une cellule de diffusion de type Franz, spécialement conçue pour opérer dans un appareil de tomographie par émission de positons (TEP), a été développée. Le fonctionnement de cette cellule a été démontré et rodé en employant un traceur radioactif (le  $^{89}\text{Zr}$ ) permettant une mesure sur plusieurs jours.

Ensuite, une méthodologie robuste et reproductible, permettant de radiomarquer les NP d'intérêt biomédical (en or ; 4 nm de diamètre) au moyen du  $^{89}\text{Zr}$ , a été mise au point. Cette procédure a permis de visualiser et de mesurer le passage de NP à travers les membranes sur de longues périodes.

Enfin, la technologie et la méthodologie de mesure ont été testées sur une série de membranes polymères provenant de gants utilisés couramment dans les cliniques de médecine nucléaire et dans les laboratoires de recherche biomédicale.

#### 3.2 Hypothèse

L'hypothèse principale de ce projet était qu'une cellule de diffusion opérée sous TEP permettrait de mesurer le passage des nanoparticules à travers les membranes polymères en temps réel, avec une sensibilité de détection environ 1000 fois supérieure à celle offerte par les techniques conventionnelles (Bailey *et al.*, 2005).

## 4. MÉTHODOLOGIE

La méthodologie du projet a été structurée en trois (3) étapes principales :

- **Partie 1 : Conception et validation d'une cellule de diffusion à partir d'un modèle simple de perméation**  
Cette étape comprenait le design d'une nouvelle cellule de diffusion qui, bien que différente des cellules reconnues par les normes actuelles, a permis pour la première fois d'obtenir un mécanisme de diffusion des contaminants à travers des membranes en utilisant la TEP.
- **Partie 2 : Développement d'une procédure de radiomarquage de nanoparticules d'or avec l'ion  $^{89}\text{Zr}$**   
Cette étape a permis de fournir aux utilisateurs de la technologie une méthode fiable et reproductible pour marquer des nanoparticules avec un radioisotope adapté à l'application.
- **Partie 3 : Essais de perméation par TEP des NP au travers de gants de nitrile et de latex**  
Cette étape a permis de démontrer l'applicabilité de la technologie au domaine des tests de perméation des contaminants à travers les gants.

Les trois étapes ont été réalisées principalement par l'équipe du CR-CHU de Québec – Université Laval (Dr Fortin). Le collaborateur de l'IRSST (Dr Tuduri) a contribué aux aspects suivants : a) identification des principaux types et modèles de cellules de diffusion sur lesquels appuyer le développement de la cellule compatible sous TEP (section 4.1.1) ; b) identification des principaux standards et normes dans le domaine des tests de perméation des gants comme EPI (sections 2.2 à 2.6) ; c) identification des principaux types de gants utilisés dans les cliniques de médecine nucléaire (Québec et Montréal) (sections 4.3.1, 4.3.2 et 5.3.1) ; d) conseils sur les analyses des données de perméation (section 4.3.6).

### 4.1 PARTIE 1 : Conception et validation d'une cellule de diffusion à partir d'un modèle simple de perméation

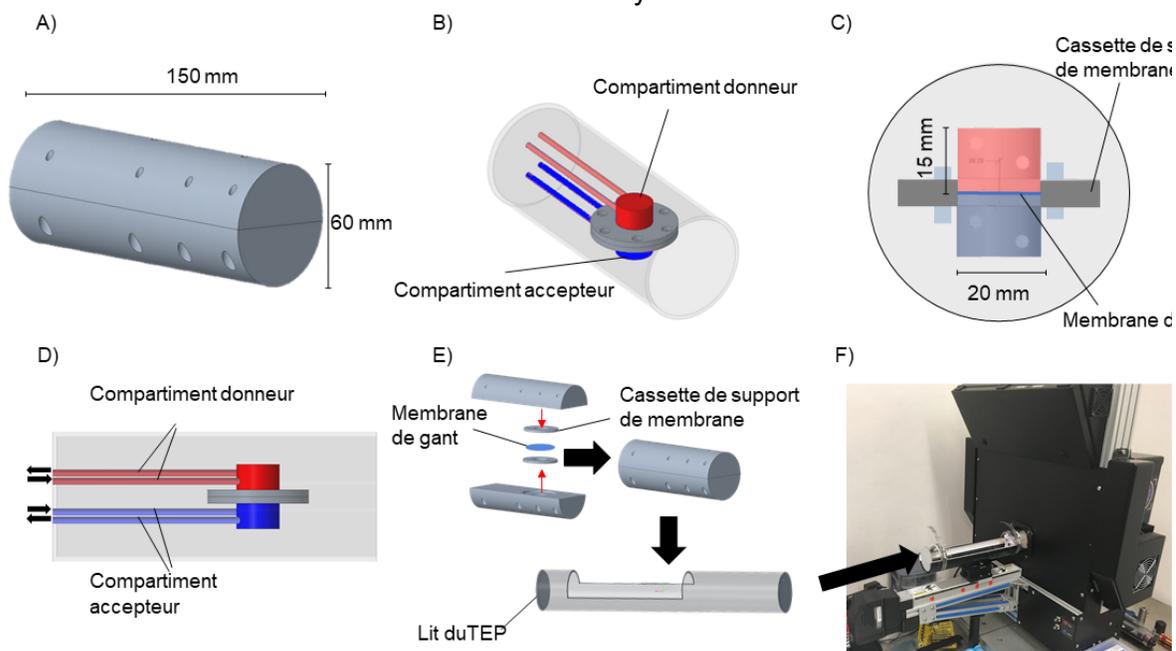
#### 4.1.1 Conception de la cellule de diffusion

La cellule a été conçue sous la forme d'un cylindre possédant les dimensions illustrées à la figure 5A (150 mm de longueur, 60 mm de diamètre). Afin de minimiser l'atténuation des photons lors des acquisitions par TEP, la cellule a été fabriquée à partir de polyéthylène haute densité (HDPE), un polymère contenant uniquement des atomes de faible numéro atomique. La cellule de diffusion est divisée en deux moitiés dont l'une contient le compartiment donneur (CD) et l'autre, le compartiment accepteur (CA). Chaque compartiment possède un volume de  $4,71 \text{ cm}^3$  (20 mm de diamètre, 15 mm de hauteur ; figure 5B et 5C). Les deux compartiments ont été conçus de façon à être centrés dans le champ de vision du système de TEP. Les deux moitiés sont assemblées par des

vis en nylon. Afin de faciliter les manipulations et accélérer les changements de membranes, une cassette de support de membrane a été conçue comme un insert entre les deux compartiments. Reliées à chaque compartiment, une entrée et une sortie légèrement décentrées permettent la circulation en continu du fluide dans la cellule de diffusion (figure 5D). Ainsi, chaque compartiment est connecté à un réservoir maintenu à l'extérieur du système d'imagerie TEP. La cellule peut être assemblée et installée dans le système TEP (figure 5E et 5F).

**Figure 5. Conception et assemblage de la cellule de diffusion insérée dans le système TEP.**

(A) Vue extérieure de la cellule de diffusion ; (B) Représentation schématique des parties internes de la cellule de diffusion montrant les deux compartiments et la cassette de support de membrane en place ; (C) Coupe axiale de la cellule de diffusion ; (D) Coupe sagittale montrant les entrées et sorties connectées à chaque compartiment ; (E) Représentation schématique de l'ensemble de la cellule de diffusion, et insertion dans un support tubulaire (lit) en plexiglas pour la protection du système ; (F) Installation de la cellule dans le système TEP.



**4.1.2 Préparation du complexe DFO-<sup>89</sup>Zr**

Afin de former un complexe soluble dans l'eau et le PBS, le <sup>89</sup>Zr a été chélaté par la déféroxamine B (DFO). Pour cela, 7 à 10 MBq d'oxalate de <sup>89</sup>Zr ont été dilués dans 85 µL d'acide oxalique (1 M). Cette solution a ensuite été neutralisée par l'ajout de 61 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1 M). Après 3 minutes, 99 µL d'une solution d'HEPES (0,1 M - pH 7) ont été ajoutés, puis 106 µL de DFO (30 mM dans du HEPES 0,1 M). Le rendement de chélation et la stabilité du complexe DFO-<sup>89</sup>Zr ont été évalués par chromatographie sur couche

mince (CCM ; n = 3). Des plaques de silice ont été utilisées comme phase stationnaire, tandis qu'une solution aqueuse d'EDTA a été utilisée comme phase mobile. Après la migration, les plaques de silice ont été découpées en différentes fractions et l'activité de chaque fraction a été mesurée à l'aide d'un compteur gamma.

#### 4.1.3 Sensibilité du système TEP aux ions $^{89}\text{Zr}$

La sensibilité de détection du système TEP aux photons générés par la désintégration du  $^{89}\text{Zr}$  a été mesurée avec des échantillons contenant différentes concentrations d'oxalate de  $^{89}\text{Zr}$  non chélaté. Pour cela, seize aliquotes radioactives ont été préparées dans 150  $\mu\text{L}$  d'eau, possédant des activités comprises entre 16 460 et 0,001 MBq (n = 2). L'activité de ces aliquotes a été mesurée à l'aide d'un compteur gamma. La quantité de matière de  $^{89}\text{Zr}$  est directement reliée à l'activité de l'échantillon et peut être calculée à partir des équations 13 et 14 :

$$N = \frac{A \times t_{1/2}}{\ln 2} \quad \text{Équation 13}$$

$$\text{Dose en mol} = \frac{N}{N_A} \quad \text{Équation 14}$$

où  $N$  est le nombre d'atomes,  $N_A$  le nombre d'Avogadro,  $A$  l'activité en becquerels (Bq) et  $t_{1/2}$  est le temps de demi-vie du  $^{89}\text{Zr}$  en secondes.

Après avoir été préparées, les aliquotes ont été analysées par TEP. Avant l'acquisition des images, le système TEP a été normalisé en utilisant une tige de  $^{68}\text{Ge}$ . La fenêtre temporelle a été fixée à 3,8 ns avec une intensité de bruit de fond de  $3,8 \times 10^5$  comptes. Les doses ont ensuite été insérées au milieu du champ de vue de l'appareil. Les données ont été enregistrées pendant 2 heures, puis les images ont été reconstruites avec une taille de voxel de 0,3 mm  $\times$  0,3 mm  $\times$  0,3 mm. Le signal a été extrait en dessinant des régions d'intérêt (ROI) de volumes égaux sur l'image de chaque tube. L'analyse d'image a ensuite été réalisée à l'aide du logiciel VivoQuant (Invicro corporation, Boston, É.-U.). À partir des activités mesurées à l'aide du compteur gamma et les intensités mesurées en TEP, une courbe de corrélation a été tracée. Cette courbe permet de relier l'intensité mesurée en TEP à la quantité de matière de  $^{89}\text{Zr}$ .

#### 4.1.4 Évaluation de l'effet de débordement du signal (« spill-off »)

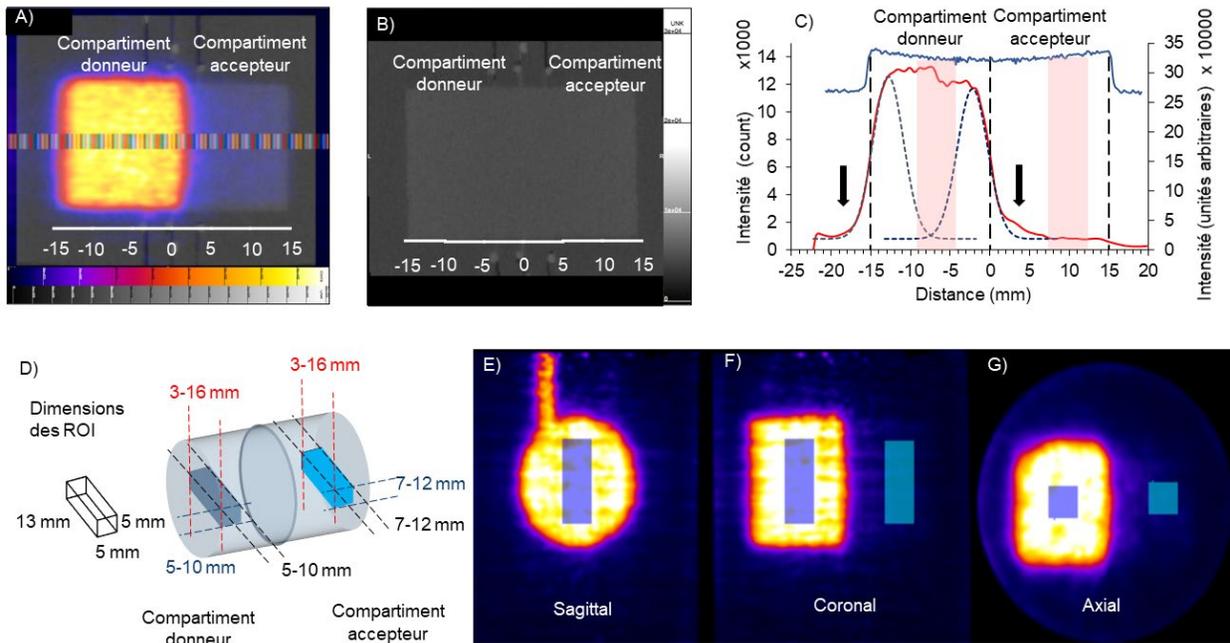
Des essais ont été menés afin de mesurer l'effet de débordement de signal sur les voxels adjacents des contours du CD et du CA. Cette mesure est nécessaire afin de positionner les ROI dans des zones de l'image où le signal est uniforme et non affecté par les effets de contour des volumes radioactifs. Pour la suite de cette étude, ces essais permettent de placer stratégiquement les ROI à partir desquelles le signal est intégré en fonction du temps. Pour réaliser ces évaluations, une membrane imperméable a été installée dans la cassette de support, qui a ensuite été insérée dans la cellule de diffusion. Le CD a été

rempli avec une solution de PBS contenant le radioisotope  $^{89}\text{Zr}$ , tandis que le CA a été rempli de PBS uniquement. La cellule a ensuite été placée dans le champ de vue du système de TEP. Le signal a été enregistré pendant 20 minutes, puis les images ont été reconstruites avec une taille de voxel de  $0,3\text{ mm} \times 0,3\text{ mm} \times 0,3\text{ mm}$  (figure 6A). Puis, afin de fournir une référence géométrique précise du contour des CA et CD, la cellule a également été scannée par tomодensitométrie (CT) (figure 6B). Les images ont été reconstruites avec une taille de voxel de  $0,18\text{ mm} \times 0,18\text{ mm} \times 0,18\text{ mm}$  en utilisant le logiciel Parallax Innovations (Ilderton, ON, Canada). L'analyse des images a été réalisée avec le logiciel VivoQuant v.3.5 (Invicro corporation, Boston, É.-U.). Les profils d'activité extraits des images TEP et les profils géométriques extraits des images obtenues en CT ont ensuite été superposés. La figure 6C révèle que l'effet de débordement est de  $4,5\text{ mm}$  à l'intérieur des parois de la cellule de diffusion. Ainsi, les ROIs doivent être positionnées à l'intérieur de cette distance.

Du côté de la membrane séparant les deux compartiments, un effet de débordement du signal de  $6,6\text{ mm}$  a été mis en évidence. Cette différence peut être attribuée à la densité plus faible de la membrane en comparaison avec le polymère constituant la cellule de diffusion. À partir de ces valeurs de débordement du signal ( $6,6\text{ mm}$  pour les surfaces adjacentes à la membrane, et  $4,5\text{ mm}$  du côté des parois de polymère), les ROI ont été placées adéquatement dans les CA et CD. Ainsi, deux volumes égaux dans chaque compartiment ont été identifiés pour l'intégration du signal lors de l'analyse des données des essais de perméation. Ces volumes sont des prismes rectangulaires de dimensions  $13\text{ mm} \times 5\text{ mm} \times 5\text{ mm}$  dont le positionnement est illustré à la figure 6D. Les prismes sont orientés perpendiculairement à l'axe principal de la cellule de diffusion. Les figures 6E-G montrent des images TEP dans lesquelles sont représentées les ROI selon différentes coupes.

**Figure 6. Évaluation de l'effet de débordement du signal résultant de la désintégration du  $^{89}\text{Zr}$  par l'acquisition.**

(A) du signal par le système TEP et (B) des paramètres géométriques de la cellule de diffusion par CT. (C) Superposition des profils d'activité et géométrique déterminés par TEP et CT mettant en évidence l'effet de débordement. (D) Placement des ROIs dans les CD et CA. (E-G) Images enregistrées par le système TEP selon plusieurs coupes et dans lesquelles les ROI ont été dessinées.



**4.1.5 Essais de perméation du complexe  $\text{DFO-}^{89}\text{Zr}$  à travers des membranes de dialyse de porosité contrôlée**

Pour les essais de perméation, des membranes de dialyse de qualité biotechnologique en cellulose ayant des degrés de porosité bien contrôlés ont été utilisées (3,5 - 25 - 300 kDa ; Spectrum Laboratories, É.-U.). Avant les essais, les membranes ont été immergées pendant 2 heures dans de l'eau nanopure, puis rincées minutieusement avec du PBS. Les membranes ont ensuite été coupées en disques de 35 mm de diamètre. Ces membranes ont par la suite été installées dans les cassettes, puis placées entre les deux compartiments de la cellule de diffusion. Chaque compartiment a ensuite été connecté à son réservoir externe et rempli avec 22 mL de PBS. À l'aide de pompes péristaltiques doubles, les solutions de chaque compartiment ont été mises en circulation avec un débit de 0,75 mL/min, permettant l'homogénéisation des solutions. Le volume des réservoirs a été déterminé sur la base du volume nécessaire pour remplir le système de tubulures et les pompes situées à l'extérieur du système de TEP, et irriguant la cellule insérée dans la TEP. Le débit de 0,75 mL/min a été fixé afin d'empêcher tout reflux ou phénomène « d'à-coups » qui aurait pu causer la présence de bulles ou une surpression dans l'un ou l'autre

des compartiments. La cellule a ensuite été placée et verrouillée sur le lit du système de la TEP et maintenue au centre du champ de vue pendant toute la durée des essais. Les acquisitions de normalisation ont été effectuées avec une tige de  $^{68}\text{Ge}$  au cours des 4 heures précédant chacune des expériences. Après l'étape de normalisation, le complexe DFO- $^{89}\text{Zr}$  a été injecté dans le réservoir du CD. Le signal a été enregistré en continu jusqu'au moment où les profils de perméation ont atteint un plateau, c'est-à-dire après 3, 5 et 14 jours pour les membranes de 300, 25 et 3,5 kDa, respectivement. Ces longs temps de diffusion observés pour des membranes poreuses indiquent une interaction entre les molécules de DFO et le matériau cellulose dont sont constituées ces membranes. L'étude de la nature de ces interactions n'a cependant pas été incluse dans ce rapport.

#### **4.1.6 Reconstruction des images, traitement et analyse des données de perméation**

La reconstruction des images en mode dynamique a été réalisée à l'aide du logiciel LabPET. Les deux premières heures ont été reconstruites en fenêtres de 10 minutes, tandis que le reste de l'acquisition a été reconstruite en fenêtres de 1 heure. Les images ont été reconstruites avec une taille de voxel de 0,3 mm × 0,3 mm × 0,3 mm. Les régions d'intérêt (ROI) ont été dessinées selon la coupe axiale (prisme de dimensions 13 mm × 5 mm × 5 mm ; volume de 27 000 voxels/ROI ; figure 6D), de manière à éviter l'effet de débordement du signal à la périphérie du CD et du CA. L'intensité a ensuite été intégrée dans chaque ROI, corrigée par la décroissance radioactive, puis normalisée à la durée de chaque fenêtre d'acquisition. Enfin, un graphique représentant l'intensité en fonction du temps a été tracé pour chacun des compartiments.

#### **4.1.7 Essais comparatifs de perméation avec une technique analytique conventionnelle**

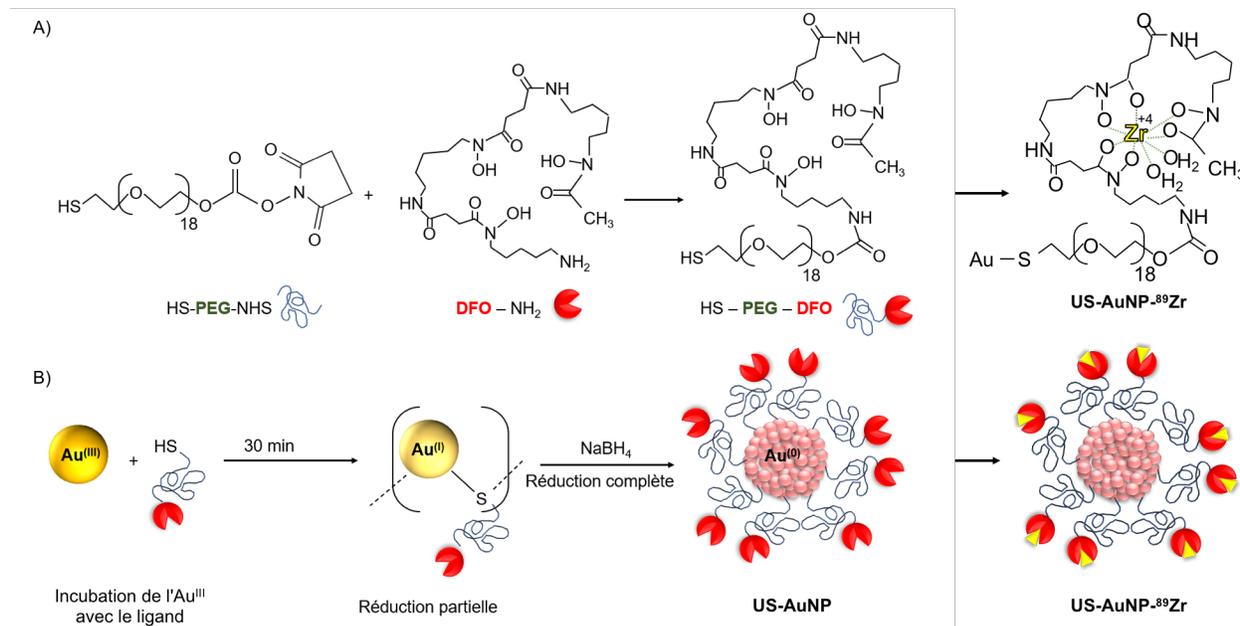
La précision et la sensibilité de la cellule de diffusion, opérée sous le système TEP, ont été comparées aux données acquises par chromatographie liquide à haute pression couplée à un spectromètre par UV-visible détectant à 201 nm (HPLC-UV). À différentes périodes (5, 15, 30 et 60 minutes, puis 2, 6, 24, 48, 72, 96 heures), 200 µL du milieu du CA ont été prélevés et remplacés par 200 µL de PBS frais. Chaque prélèvement a été dosé par HPLC-UV. Un mélange d'une solution aqueuse de TRIS 10 mM pH 5,5 et d'acétonitrile a été utilisé comme phase mobile. À partir des données recueillies, un profil de perméation a été tracé.

## 4.2 PARTIE 2 : Développement d'une procédure de radiomarquage de nanoparticules d'or avec l'ion $^{89}\text{Zr}$

### 4.2.1 Synthèse des US-AuNP

La synthèse des nanoparticules fonctionnalisées avec le ligand DFO s'est déroulée en plusieurs étapes schématisées à la figure 7.

Figure 7. Étapes de la synthèse des nanoparticules radioactives US-AuNP- $^{89}\text{Zr}$ .



Lors de la première étape, le polymère difonctionnel HS-PEG-NHS a été modifié afin de former le ligand HS-PEG-DFO. Cette réaction a été réalisée par aminolyse de l'ester succinimide (NHS) en présence de l'amine primaire portée par le DFO. Pour cela, 30  $\mu\text{mol}$  de HS-PEG-NHS ont été mélangés avec 152  $\mu\text{mol}$  de DFO. Ce mélange de poudre a ensuite été dissous dans 0,5 ml de DMSO. Après 30 minutes, 2-3 ajouts de 0,5 mL de PBS, espacés de 30 minutes, ont été réalisés. À la suite de la modification du polymère, les NP d'or ont été synthétisées en adaptant la méthode de Brust *et al.* (1994). Pour cela, 25,4  $\mu\text{mol}$  de  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  ont été dissous dans 20 mL d'un mélange acétonitrile-isopropanol (50/50 %V/V). Le polymère modifié HS-PEG-DFO a ensuite été ajouté à la solution d' $\text{Au}^{\text{III}}$ . Lors de cette étape, la réduction partielle de l' $\text{Au}^{\text{III}}$  en  $\text{Au}^{\text{I}}$  s'est manifestée par la décoloration partielle de la solution initialement jaune. Après 30 minutes, 264,3  $\mu\text{mol}$  de  $\text{NaBH}_4$  préalablement dissous dans 10 mL d'eau nanopure ont été ajoutés goutte à goutte (300  $\mu\text{L}/\text{min}$ ) au mélange maintenu sous agitation magnétique à 1500 rpm. Lors de cette étape, l'or a été complètement réduit conduisant à la formation d'une suspension de couleur rouge orangé. Après 3 heures de stabilisation, les solvants organiques ont été évaporés et la suspension de US-AuNP a été transférée dans une membrane de dialyse (*molecular weight cut-off* [MWCO] : 25 kDa - Spectra/Por® 6, É.-U.) contre de l'eau

nanopure, pendant deux jours afin d'éliminer les ligands HS-PEG-DFO en excès et les sels n'ayant pas réagi.

#### 4.2.2 Radiomarquage des US-AuNP

Les US-AuNP ont ensuite été radiomarquées avec le radioisotope  $^{89}\text{Zr}$  en utilisant la méthode suivante : 5-6 MBq d'oxalate de  $^{89}\text{Zr}$  ont été dissous dans 85  $\mu\text{L}$  d'acide oxalique (1 M). Puis, 61  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (1 M) ont été ajoutés afin de neutraliser la solution (pH 7,0). La solution a ensuite été diluée avec 99  $\mu\text{L}$  de solution HEPES (100 mM; pH 7,0). Enfin, la suspension de US-AuNP a été ajoutée (55  $\mu\text{L}$  à 10 mM en Au dans l'eau) et le mélange a été incubé pendant 1 heure. Afin d'éliminer l'excès de  $^{89}\text{Zr}$  non chélaté, les NP radiomarquées ont été purifiées à l'aide de colonnes de chromatographie d'exclusion stérique NAP-25<sup>TM</sup> jetables. La colonne a été éluée avec du PBS et des fractions de 500  $\mu\text{L}$  ont été recueillies. La pureté de chaque fraction a été vérifiée par CCM en utilisant une solution aqueuse d'EDTA 100 mM à un pH de 5 (section 4.3.2).

#### 4.2.3 Caractérisations des US-AuNP avant et après radiomarquage

**Taille et morphologie.** Le diamètre hydrodynamique des US-AuNP a été mesuré par diffusion dynamique de la lumière (DLS) dans l'eau nanopure, le PBS et l'éthanol 70 % à 25 °C. Les viscosités de ces solvants étaient respectivement de 0,887 2, 1,050 0 et 1,200 0 cP. Les indices de réfraction de ces trois solvants étaient respectivement de 1 330, 1 334, 1 360. L'indice de réfraction de l'or a été fixé à 0,200. La taille et la morphologie des US-AuNP ont été analysées par MET. Pour cela, 3  $\mu\text{L}$  de suspension ont été déposés et séchés sur des grilles de cuivre recouvertes de carbone. Pour chaque grille, les images ont été collectées dans quatre quadrants différents. À partir de mesures réalisées sur plus de 280 particules pour chaque suspension de NP, une distribution granulométrique a été réalisée en utilisant le logiciel ImageJ<sup>1</sup>.

**Stabilité colloïdale.** Le potentiel zêta des suspensions US-AuNP a été mesuré par microélectrophorèse laser Doppler. Ces mesures ont été réalisées dans l'eau.

**Composition des US-AuNP.** Les concentrations en Au et Zr de chaque suspension de NP ont été déterminées par spectroscopie d'émission atomique par plasma micro-ondes (MP-AES). Avant l'analyse, 25  $\mu\text{L}$  de suspension de NP ont été digérés dans 1 mL d'eau régale pendant 2 heures à 80 °C. Puis, 1 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  à 80 °C a été ajouté et la digestion a été prolongée de 2 heures. L'expérience a été réalisée en *triplicata* pour chaque suspension et chaque contrôle. À partir des échantillons de US-AuNP préalablement lyophilisés, le rapport de masse entre les matériaux organiques et inorganiques a été déterminé par analyse thermogravimétrique (5 °C/min de 25 à 800 °C). Des poudres de DFO et de PEG ont également été analysées comme témoins.

---

<sup>1</sup> Logiciel du domaine public : [Downloads \(imagej.net\)](http://imagej.net)

**Structure chimique.** La structure chimique des US-AuNP avant et après radiomarquage a été déterminée par des analyses de spectroscopie électronique des rayons X (XPS) et de FTIR. Pour les analyses de XPS, les suspensions de NP ont préalablement été déposées puis séchées à la surface de substrats de silicium à une face polie préalablement lavés. Pour les analyses de FTIR, les suspensions de NP ont préalablement été séchées sur un cristal de Si. Les spectres d'absorption infrarouges du DFO pur et du HS-PEG-COOH pur ont également été enregistrés comme témoins.

#### 4.2.4 Sensibilité du système TEP aux US-AuNP-<sup>89</sup>Zr

La LOD du système TEP aux suspensions de US-AuNP-<sup>89</sup>Zr a été déterminée en réalisant une courbe de corrélation reliant l'intensité mesurée par le système TEP à la concentration en Au des échantillons. Pour cela, six aliquotes de 200 µL de US-AuNP-<sup>89</sup>Zr possédant différentes concentrations en Au ont été préparées. La concentration en Au de chaque aliquote a été déterminée par MP-AES. Avant les analyses, le système TEP a été normalisé avec une tige de <sup>68</sup>Ge. Les aliquotes des échantillons ont ensuite été insérées au milieu du champ de vue de l'appareil et les données ont été acquises pendant 1 heure. La fenêtre temporelle a été fixée à 3,8 ns avec une intensité de fond de  $3,3 \pm 0,2 \times 10^{-5}$  cps. L'image d'une heure a été reconstruite avec une taille de voxel de 0,3 mm × 0,3 mm × 0,3 mm. L'analyse d'image a été réalisée à l'aide du logiciel Amide (v.1.0.4). Pour chaque aliquote, le signal radioactif a été intégré dans chaque ROI de volumes égaux (4 mm × 8 mm ; volume : 100 µL). Les intensités extraites en cps ont été tracées en fonction de la concentration en Au, déterminées à partir des mesures de MP-AES.

### 4.3 PARTIE 3 : Essais de perméation par TEP des NP au travers de gants de nitrile et de latex

#### 4.3.1 Sélection des milieux et des membranes de perméation

Dans la pratique de laboratoire clinique et biomédicale et avant les procédures de manipulation, les gants sont souvent conditionnés au moyen d'une solution alcoolique ou d'une solution saline. Ainsi, pour cette étude deux liquides porteurs ont été sélectionnés : l'éthanol 70 % et une solution tampon de phosphate PBS. Ces solutions ont été utilisées à la fois dans le milieu de suspension des NP (CD) et dans le milieu de collecte des NP (CA). Trois (3) types de gants en nitrile ont été sélectionnés. Les gants de nitrile Primatouch<sup>®</sup> ont été choisis comme gants de référence. Ils sont normalisés par l'Association canadienne de normalisation (ou Groupe CSA), entre autres par la norme ISO 11193-1 afin de valider des paramètres physiques tels que les dimensions, la résistance mécanique et la détection de trous (ISO, 2020). Les gants de nitrile Sterling SG<sup>®</sup> et Aquasoft<sup>®</sup> ont été utilisés comme types de gants non standards, largement utilisés dans les hôpitaux et les cliniques. À titre de comparaison, des gants de latex non standardisés ont également été sélectionnés (Microflex<sup>®</sup> ou Evolution One<sup>®</sup>).

### 4.3.2 Préparation et caractérisation des membranes

Afin de simuler l'usure des gants résultant de l'étirement qu'ils subissent lors de la flexion des doigts, les membranes ont été déformées mécaniquement pendant une période d'une heure. Pour cela, des pièces de 9 cm × 4 cm ont été découpées dans chaque membrane. Les pièces ont ensuite été fixées dans un étau de serrage et étirées jusqu'à 50 % de déformation dans une direction (direction  $x$ ) à une fréquence d'une fois toutes les 5 minutes pendant une heure. La même procédure a été répétée dans la direction  $y$ .

La morphologie des membranes avant et après étirement a été observée par microscopie électronique à balayage (MEB). Pour cela, les échantillons ont préalablement été métallisés avec une fine couche d'or. Une partie de ces échantillons, non métallisés, ont été analysés par spectroscopie à rayons X à dispersion d'énergie (EDX). Ces mesures ont été réalisées sur 3 à 4 images dans différents quadrants sur chaque surface de gant.

De plus, en prévision des essais de perméation pour une période de 42 heures, chaque membrane a été immergée pendant la même durée dans l'éthanol 70 % et le PBS (sans NP). Les immersions dans le PBS ont été menées uniquement pour les membranes de latex et de nitrile Primatouch®. Les surfaces extérieures et intérieures de chaque membrane ont ensuite été caractérisées par FTIR afin de mettre en évidence d'éventuelles modifications structurales liées à leur immersion dans leur solvant respectif.

### 4.3.3 Préparation des nanoparticules

Pour les essais de perméation au travers des membranes de polymère, les US-AuNP-<sup>89</sup>Zr ont été préparées selon la méthode décrite aux sections 4.4.1 et 4.4.2. À la suite de la purification des US-AuNP-<sup>89</sup>Zr par chromatographie d'exclusion stérique, les différentes fractions ont été réunies et la suspension de NP a été diluée avec du PBS ou de l'éthanol 70 % afin d'atteindre un volume final de 5,5 mL.

### 4.3.4 Essais de perméation

Les essais de perméation ont été menés en utilisant la cellule de diffusion décrite à la section 4.3.1, en s'inspirant des directives de la norme ASTM F739 (ASTM International, 2020b). Les acquisitions de normalisation ont été réalisées à l'aide d'une tige de <sup>68</sup>Ge au cours des 4 heures précédant chaque expérience. Les membranes ont été fixées dans la cassette, puis installées dans la cellule de diffusion. Le CA a été rempli avec 5,5 mL d'éthanol 70 % ou de PBS, tandis que le CD a été rempli avec 5,5 mL de suspension de US-AuNP-<sup>89</sup>Zr à  $40,8 \pm 2,3 \mu\text{M}$  d'Au et contenant  $\sim 5 \text{ MBq}$  de <sup>89</sup>Zr (Au:<sup>89</sup>Zr =  $1:1,8 \times 10^{-5}$ ). La cellule de diffusion a été placée dans le champ de vue de l'appareil et le signal a ensuite été enregistré en continu pendant 42 heures. À la fin de chaque expérience, la cellule a été vidée et les parois de la membrane ont été séchées en utilisant des lingettes Kimtech (Kimberly-Clark, É.-U.). L'activité des US-AuNP-<sup>89</sup>Zr piégées dans les membranes a ensuite été mesurée à l'aide du compteur gamma. Les fluides des CD et

CA, ainsi que les membranes de polymère, ont été conservés pour des analyses post-perméation. Toutes les expériences de perméation ont été réalisées en *triplicata*.

#### 4.3.5 Reconstruction des images, analyse et traitement des données de perméation

La reconstruction des images a été réalisée à l'aide du logiciel LabPET (IR&T technologies inc, Sherbrooke Canada). Les images ont été reconstruites en fenêtres d'une heure avec une épaisseur axiale de 0,3 mm et une taille de voxel de 0,3 mm × 0,3 mm × 0,3 mm. Dans chaque compartiment, les régions d'intérêt (ROI) ont été dessinées selon la coupe axiale (cylindre de dimension : 14,5 mm de diamètre × 9 mm de hauteur ; volume : 59 515 voxels/ROI) de manière à éviter l'effet de débordement du signal à la périphérie du CD et du CA. L'intensité a ensuite été intégrée dans chaque ROI, corrigée pour la décroissance radioactive, puis normalisée à l'intensité maximale mesurée dans le CD ( $I_{\max}$ ). Cette dernière opération permet de tenir compte de la variabilité de la dose radioactive initiale entre les différents essais. Enfin, un tracé représentant l'intensité brute en fonction du temps a été obtenu pour chacun des compartiments (CD et CA). Toutefois, grâce à la courbe de corrélation obtenue en suivant les opérations décrites à la section 4.4.4, les intensités brutes mesurées par le système TEP ont été converties en termes de concentration d'Au (mesurée par MP-AES). Ainsi, pour chaque instant de la mesure  $i$ , les intensités brutes mesurées dans le CD ont été converties en en utilisant l'équation 15 :

$$A_{t=i}^{CD} = \frac{I_{t=i}^{CD} \times A_0}{I_0} \quad \text{Équation 15}$$

où  $A_{t=i}^{CD}$  et  $I_{t=i}^{CD}$  correspondent respectivement à la quantité en Au et à l'intensité en cps à l'instant  $i$  dans le CD.  $A_0$  et  $I_0$  correspondent respectivement à la quantité initiale en Au (0,22  $\mu\text{mol}$  d'Au mesurée par MP-AES) et à l'intensité initiale en cps dans le CD (intensité correspondant à l'activité  $\sim 5$  MBq).

Les valeurs d'intensité intégrée ont d'abord été corrigées en soustrayant l'intensité du bruit de fond, c'est-à-dire l'intensité initiale détectée dans le CA avant la perméation des US-AuNP-<sup>89</sup>Zr, en utilisant l'équation 16 :

$$I_{t=i}^{CA} = I_{\text{non-corrigée } t=i}^{CA} - I_{\text{bruit de fond}} \quad \text{Équation 16}$$

À la suite de cette correction, l'intensité brute détectée dans le CA a été convertie en termes de quantité de matière en Au, en utilisant l'Équation 17 :

$$A_{t=i}^{CA} = \frac{I_{t=i}^{CA} \times A_0}{I_0} \quad \text{Équation 17}$$

où  $A_{t=i}^{CA}$  et  $I_{t=i}^{CA}$  correspondent respectivement à la quantité en Au et à l'intensité en cps à l'instant  $i$  dans le CA.  $A_0$  et  $I_0$  correspondent respectivement à la quantité initiale en Au (0,22  $\mu\text{mol}$  Au mesurée par MP-AES) et à l'intensité initiale en cps dans le CD (intensité correspondant à l'activité  $\sim 5$  MBq).

La quantité totale de US-AuNP-<sup>89</sup>Zr dans le système, notée  $A_T$ , peut être divisée en trois populations : dans le CD ( $A_{CD}$ ), dans le CA ( $A_{CA}$ ) et dans la membrane des gants ( $A_{gant}$ ). Ainsi, la quantité de US-AuNP-<sup>89</sup>Zr dans la membrane du gant à chaque instant  $i$  peut être déduite mathématiquement en utilisant l'équation 18 :

$$A_{gant} = A_T - A_{CD} - A_{CA} \quad \text{Équation 18}$$

À partir de ces quantités, les profils de perméation pour chaque compartiment et pour chaque membrane ont été tracés.

#### 4.3.6 Calculs des paramètres de perméation

Les paramètres de perméation ont été calculés en se basant sur le modèle de dose pseudo-infinie décrit dans la section 2.5. Les profils obtenus se sont révélés très similaires à l'exemple fourni à la figure 3. Une ligne droite a été ajustée sur la portion du régime permanent des profils de perméation. La pente de cette ligne indique l'afflux en régime permanent ( $J_{ss}$ ). La pente a ensuite été multipliée par le volume, puis divisée par la surface de la membrane (314,16  $\text{mm}^2$ ), afin de calculer les valeurs d'influx en  $\text{nmol} \cdot \text{mm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ . L'extrapolation de la ligne pour couper l'axe des x indique le temps de latence avant le début de la perméation ( $\tau$ ). À partir de la valeur de  $\tau$ , le coefficient de diffusion  $D$  a été calculé selon l'équation 3 (voir section 2.5). Le flux total de perméation moyen  $\bar{J}_T$  a été calculé en utilisant l'équation 12 (voir section 2.5). Le flux moyen total  $F_T$  (exprimé en nmol) a été calculé en utilisant l'équation 19 :

$$F_T = (C_i - C_{i-t}) \times V \quad \text{Équation 19}$$

avec  $V$  le volume de US-AuNP-<sup>89</sup>Zr introduit dans le CD au début de chaque essai de perméation.

#### 4.3.7 Analyses post-perméation

Après chaque essai de perméation, la stabilité de la chélation des ions de <sup>89</sup>Zr sur les NP a été vérifiée afin de s'assurer de l'absence de relargage d'ions pendant les expériences. De plus, la concentration finale en Au dans les fluides récoltés dans le CA et le CD a été mesurée par MP-AES, une technique très proche de l'ICP-MS. Finalement, à la fin de l'expérience de perméation, les membranes ont été analysées par FTIR afin de détecter la présence de US-AuNP-Zr.

#### 4.4 Réactifs, produits et équipements

Le sel de mésylate de déféroxamine (DFO), le chlorure d'or trihydraté ( $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ), le borohydrure de sodium ( $\text{NaBH}_4$ ), le diméthylsulfoxyde (DMSO), le chlorure de zirconium ( $\text{ZrCl}_4$ ) ont été achetés auprès de Sigma-Aldrich (Canada). L'oxalate de  $^{89}\text{Zr}$  a été acheté auprès de Perkin Elmer (É.-U.). La solution tampon HEPES, le carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), la solution saline de tampon phosphate (PBS; pH 7,4), l'isopropanol et l'hydroxyde d'ammonium ont été achetés auprès de ThermoFisher (Canada). La solution saline de tampon phosphate (PBS) (pH 7,4) a été achetée soit chez ThermoFisher ou chez Gibco par Life Technologies (Canada). Le sel disodique de l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA), ainsi que les plaques de chromatographie sur couche mince (CCM) de silice TLC 60 F254 ont été achetés auprès de Millipore (Canada). L'acétonitrile a été acheté auprès de VWR (Canada). L'acide nitrique et l'acide chlorhydrique ont été achetés auprès de Anachemia (Canada). La solution de peroxyde d'hydrogène a été achetée auprès de Fluka Analytical (Canada). L'hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ ) a été acheté auprès de Macron (Canada). L'éthanol a été acheté auprès de Commercial Alcohol (Canada). Le polyéthylène glycol bifonctionnalisé (HS-PEG-NHS; 1000 Da) a été acheté auprès de Biochempeg (É.-U.). Le polyéthylène haute densité (HDPE) et le polyméthacrylate de méthyle (PMMA) utilisés pour la fabrication de la cellule de diffusion ont été achetés auprès du Groupe Polyalto (Canada). Des vis de nylon ont été achetées auprès de McMaster-Carr (Canada). Des tubes de dialyse en cellulose régénérée préhumidifiée (MWCO : 25 kD) ont été achetés chez Spectra/Por® 6 (É.-U.). Des membranes de dialyse de qualité biotechnologique de 3,5, 25 et 300 kDa ont été achetées auprès de Spectrum Laboratories (É.-U.). Les substrats en silicium à une face polie ont été achetés auprès de Cemat Silicon S.A (Danemark).

Les acquisitions d'images par TEP ont été réalisées en utilisant l'appareil LabPET II, (IR&T, Sherbrooke, Québec, Canada) équipé de cristaux de détection en oxyorthosilicate de lutétium et d'yttrium dopés au cérium (LYSO), disposés en 4 anneaux (79 mm de diamètre), chacun composés de 1536 éléments détecteurs de 1,12 mm × 1,12 mm. Les mesures de tomодensitométrie pour la mesure du débordement du signal (« spill-off ») ont été réalisées à l'aide du système CT Explore Locus RS0801012 (80 kV, 100 ms, binning : 4x4 ; GE Healthcare, É.-U.).

Les mesures d'activité ont été réalisées à l'aide d'un compteur gamma Atomlab 950 Medical Spectrometer (Biodex Medical, France). La circulation en continu des solutions de DFO- $^{89}\text{Zr}$  et des suspensions de US-AuNP- $^{89}\text{Zr}$  dans chaque compartiment de la cellule de diffusion était assurée par des pompes péristaltiques doubles à vitesse variable Masterflex L/S Compact Drive (Cole-Parmer, Canada). Les analyses de chromatographie liquide haute pression ont été réalisées avec un système HPLC Waters (Milford, MA, É.-U.) équipé d'une colonne Luna C18 de dimensions 150 mm × 3 mm × 3,0 µm (Phenomenex, Torrance, CA, É.-U.). La détection des analytes a été réalisée à l'aide d'un détecteur UV (Waters PDA 2996) à 201 nm.

Le diamètre hydrodynamique des suspensions de US-AuNP a été mesuré par DLS en utilisant l'appareil NanoZS de Malvern Instruments (Worcestershire, Royaume-Uni). L'appareil est équipé d'une source laser He-Ne émettant à 633 nm. L'angle de détection est de 173°. Le potentiel zêta de ces suspensions a été mesuré par microélectrophorèse laser Doppler en utilisant le même appareil. Les cuves DTS1050 (Malvern Instruments, Worcestershire, Royaume-Uni) ont été utilisées pour ces mesures.

Les images de MET ont été réalisées en utilisant l'appareil Technai Spirit G2 Biotwin de FEI opérant à 80 keV. Les images de MEB ont été réalisées en utilisant l'appareil FEI Quanta 250 (Thermo-Fisher, OR, É.-U.), opérant à 10 keV. Ce microscope est couplé au détecteur EDAX (Ametek, É.-U.) permettant des analyses par spectroscopie des rayons X à dispersion d'énergie. La métallisation des échantillons a été réalisée à l'aide de l'appareil Bal -Tec MED020.

Les concentrations en éléments Au et Zr ont été déterminées par spectroscopie d'émission atomique par plasma micro-ondes (MP-AES) en utilisant l'appareil Perkin Elmer Analyst 800. Les analyses thermogravimétriques (ATG) ont été réalisées en utilisant l'appareil TGA-2 - Thermogravimetric Analyzer SF® (Mettler, Toledo, É.-U.). Lors des analyses, les échantillons ont été chargés dans un creuset en alumine ME-24123 (Mettler Toledo, É.-U.). Les thermogrammes ont été analysés à l'aide du logiciel Star Excellence® (Mettler Toledo, É.-U.).

Les analyses de FTIR ont été réalisées à l'aide de l'appareil Agilent Cary 660 (Agilent Technologies, É.-U.). Les analyses de XPS ont été réalisées avec le spectromètre PHI 5600-ci (Physical Electronics, É.-U.) équipé d'une source chromatique de rayon X en aluminium 228 (1486,6 eV) pour des spectres d'enquête (0–1400 eV) à 200 W. Les spectres de haute résolution du C 1s, O 1s, S 2p, N 1s et Au 4f, Zr 3 d ont été obtenus en utilisant une source de rayons X au magnésium chromatique (1253,6 eV) à 150 W. La détection a été réalisée à 45° en surface. Pour chaque substrat, 3 spots de 50 µm<sup>2</sup> ont été analysés et moyennés. Les pics acquis à haute résolution ont été ajustés à l'aide du logiciel PHI Multi-Pak (version 9.1, Japon).

## 5. RÉSULTATS

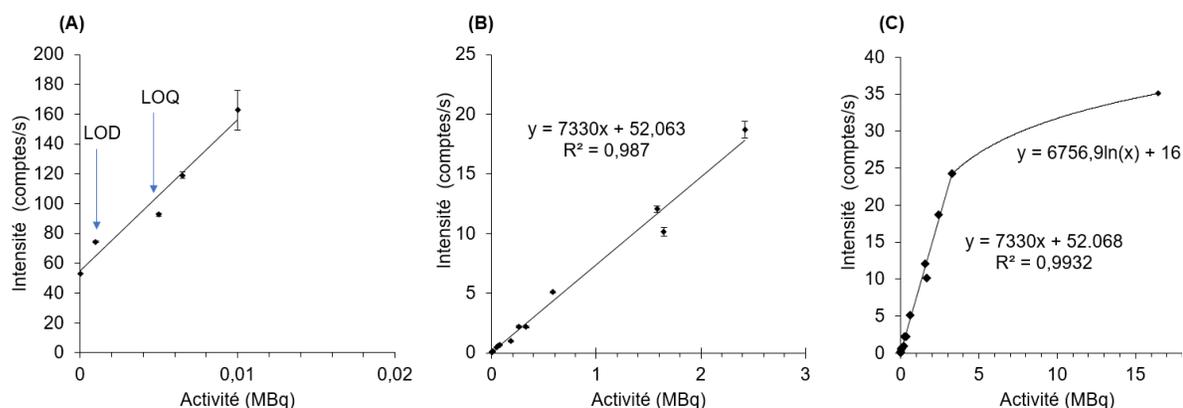
### 5.1 PARTIE 1 : Conception et validation d'une cellule de diffusion à partir d'un modèle simple de perméation

#### 5.1.1 Sensibilité du système de TEP à la détection du radioisotope $^{89}\text{Zr}$

La sensibilité de la TEP à détecter la présence des ions radioactifs  $^{89}\text{Zr}$  a été déterminée en préparant plusieurs aliquotes d'oxalate de  $^{89}\text{Zr}$  à différentes concentrations. Ces aliquotes ont systématiquement été analysées par TEP et par compteur gamma. Ces mesures ont permis de tracer la courbe de corrélation représentée avec différentes échelles d'activité à la figure 8. Pour la gamme de concentrations comprises entre 0,001 et 2,4 MBq, la courbe de corrélation montre une relation linéaire entre l'intensité mesurée par TEP et l'activité mesurée par compteur gamma. En considérant les concentrations supérieures à 2,4 MBq, la relation semble être logarithmiquement linéaire (figure 8C). Cette perte de linéarité s'explique par une saturation partielle des détecteurs du TEP. Ainsi, dans le cas où l'activité introduite dans le champ de vue de l'appareil dépasserait 2,4 MBq, les données acquises ne permettraient plus une quantification fiable.

**Figure 8. Courbes de corrélation reliant l'intensité détectée par le système TEP et l'activité mesurée à l'aide d'un compteur gamma pour différentes concentrations en oxalate de  $^{89}\text{Zr}$ .**

(A) Relation linéaire pour des activités comprises entre 0,001 et 0,01 MBq, présentant les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) ; (B) Relation linéaire pour des activités comprises entre 0,005 et 2,4 MBq ; (C) Perte de la linéarité au-delà d'une activité de 2,4 MBq.



À partir de la courbe de corrélation présentée à la figure 8A, la LOD et la limite de quantification (LOQ) ont été extraites et sont égales à 0,001 MBq et 0,005 MBq, respectivement. En convertissant ces activités en quantité de matière de  $^{89}\text{Zr}$  (équations 13 et 14), la LOD et la LOQ sont respectivement égales à 0,7 fmol et 3,4 fmol de  $^{89}\text{Zr}$ . Ces

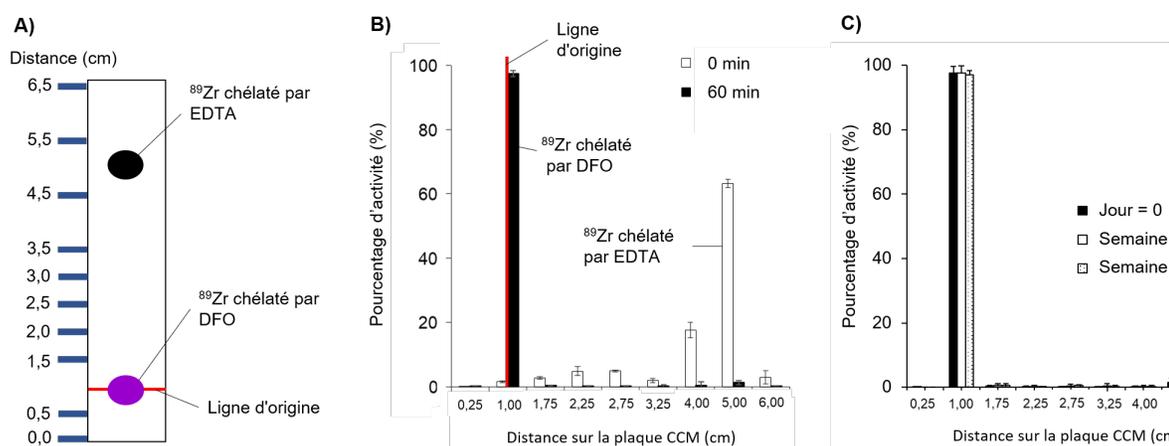
données confirment la très haute sensibilité du système TEP pour la détection de traces de  $^{89}\text{Zr}$ . Il est à noter que cette courbe de corrélation est spécifique à chaque système TEP et doit être vérifiée fréquemment afin de s'assurer que les mesures du système ne dérivent pas.

### 5.1.2 Préparation du complexe DFO- $^{89}\text{Zr}$

Le radioisotope  $^{89}\text{Zr}$  est un émetteur de positons dont la demi-vie d'environ 78,6 heures (3,3 jours) est compatible avec la durée des essais de perméation. En raison de leur nature oxophile, les ions de  $^{89}\text{Zr}$  possèdent une faible solubilité dans l'eau. La chélation de ces ions avec de petites molécules est donc nécessaire pour augmenter leur solubilité. Pour cette étude, le choix s'est orienté vers la déféroxamine B (DFO), l'agent de chélation le plus souvent utilisé pour le  $^{89}\text{Zr}$ .

La stabilité et le rendement de chélation ont été déterminés par CCM. Après avoir mélangé le DFO avec le  $^{89}\text{Zr}$ , 1  $\mu\text{L}$  a été prélevé après 0 et 60 minutes, puis déposé sur la ligne de base de la plaque de CCM. L'élution a été réalisée à l'aide d'une solution aqueuse d'EDTA capable de chélater le  $^{89}\text{Zr}$  libre. Ainsi, le  $^{89}\text{Zr}$  non chélaté par le DFO a été chélaté par l'EDTA. Ce complexe EDTA- $^{89}\text{Zr}$  est capable de migrer, tandis que le complexe DFO- $^{89}\text{Zr}$  reste sur la ligne de base. Afin de quantifier le rendement de chélation, la plaque de CCM a été découpée en plusieurs fractions comme illustré à la figure 9A. L'activité de chaque fraction a été mesurée à l'aide d'un compteur gamma afin de tracer le pourcentage d'activité en fonction de la distance (figure 9B).

**Figure 9. Essais de stabilité du complexe DFO- $^{89}\text{Zr}$  menés par CCM.**  
 (A) Représentation des différentes fractions de la plaque CCM analysées par un compteur gamma. (B-C) Pourcentage d'activité de chaque fraction de la plaque de CCM permettant la comparaison du pourcentage de chélation après : (B) 0 et 60 minutes ; et (C) 1 et 2 semaines.

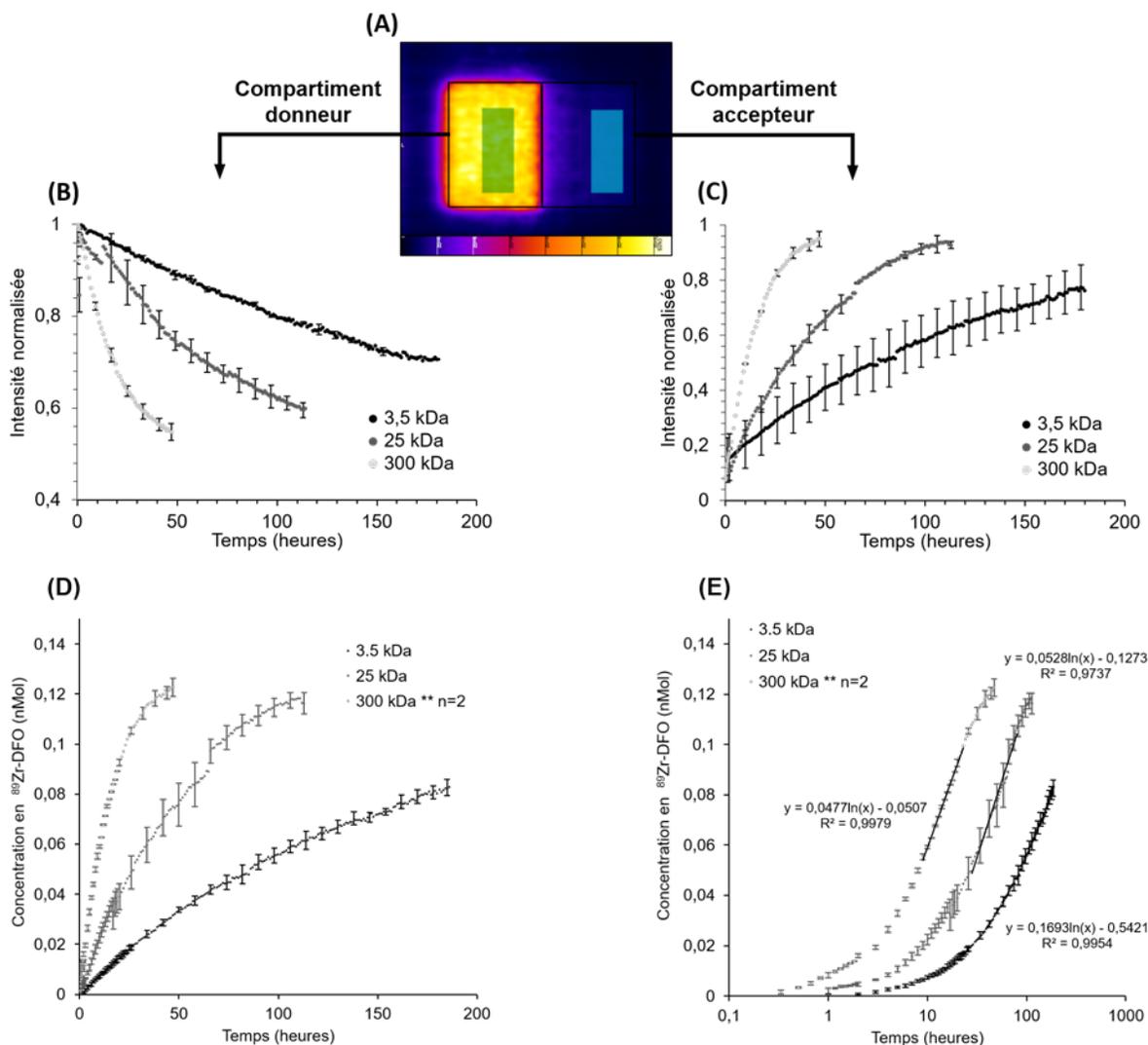


Après 60 minutes, 98 % de l'activité du  $^{89}\text{Zr}$  est mesurée sur la ligne de base attestant de sa chélation avec le DFO. Il est à noter que la même méthodologie a été mise en place pour étudier la stabilité du complexe DFO- $^{89}\text{Zr}$ . Ces résultats démontrent une stabilité du complexe DFO- $^{89}\text{Zr}$  pendant au moins 2 semaines (figure 9C). Les essais de CCM sont relativement simples à réaliser dans un laboratoire de médecine nucléaire et permettent de confirmer la rétention des ions de  $^{89}\text{Zr}$  dans le chélate utilisé pour le radiomarquage des NP.

### 5.1.3 Essais de perméation

À la suite de la préparation du complexe DFO- $^{89}\text{Zr}$ , les essais de perméation ont été menés en utilisant des membranes de dialyse pour lesquelles la taille des pores est connue (MWCO : 3,5 – 25 – 300 kDa). Au début de chaque essai, l'activité totale introduite dans le CD (compartiment au sein de la cellule + réservoir + tubulures reliant le compartiment au réservoir) était comprise entre 7 et 10 MBq (note : 10 MBq  $\approx$  0,303 nM  $^{89}\text{Zr}$ ). La figure 10A représente la coupe axiale de la cellule de diffusion dans laquelle des volumes d'intérêt ont été stratégiquement placés dans chaque compartiment afin de tenir compte de l'effet de débordement du signal entre les voxels adjacents. Le signal dans les volumes d'intérêt du CA et du CD a été intégré en fonction du temps, permettant d'obtenir les profils de perméation de la figure 10B et 10 C. Ces résultats révèlent la cinétique de diffusion du complexe DFO- $^{89}\text{Zr}$  quittant le CD et entrant dans le CA. La quantité de DFO- $^{89}\text{Zr}$  augmente et diminue de façon continue dans le CA et dans le CD, jusqu'à atteindre un plateau. Ce plateau est atteint d'autant plus vite que la taille des pores est élevée, puisque sans surprise, la perméation observée est plus rapide pour la membrane de 300 kDa par rapport aux membranes possédant des pores plus petits (3,5 et 25 kDa).

**Figure 10.** (A) Coupe axiale de la cellule de perméation faisant apparaître les régions d'intérêt placées dans chaque compartiment. Profils de perméation du DFO-<sup>89</sup>Zr au travers des membranes de dialyse dans le CD (B) et dans le CA (C, D, E). Ces profils sont représentés avec différentes échelles de temps : une échelle linéaire (B, C, D) et une échelle logarithmique (E).

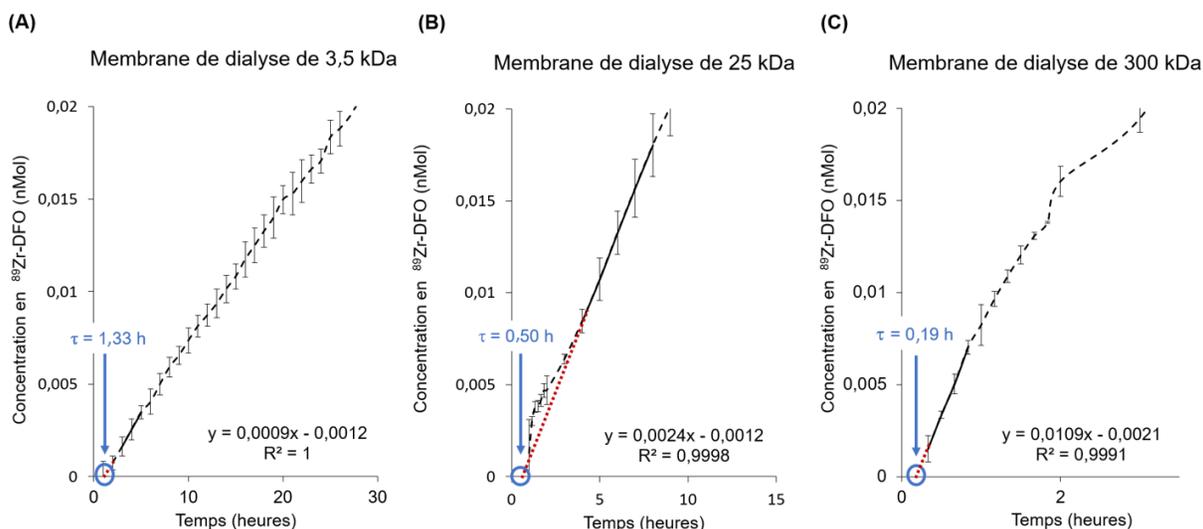


À l'aide de la courbe de corrélation de la figure 8, les intensités des profils de perméation ont été converties en concentration en DFO-<sup>89</sup>Zr pour obtenir la figure 10D et 10E. Avec cette figure, la sensibilité des mesures menées par TEP est confirmée. En effet, il est possible de détecter dès les premières minutes des traces de DFO-<sup>89</sup>Zr dans le CA. D'autre part, il est possible de suivre l'évolution de la concentration avec une précision très élevée, de l'ordre de 10 pMol, si l'on tient compte de l'incertitude des mesures (barres d'erreur).

En représentant les profils de perméation en utilisant une échelle logarithmique pour l'abscisse, on peut identifier 3 phases distinctes : (1) une phase de latence, (2) une phase correspondant au transfert de masse des molécules du compartiment donneur vers le compartiment accepteur, (3) une phase d'équilibre correspondant à l'inflexion des courbes de perméation qui indique que l'état d'équilibre est atteint entre les deux compartiments.

En traçant ces profils de perméation en tenant compte uniquement des premières heures (figure 11), il est possible d'extraire le temps de latence ( $\tau$ ) en extrapolant la portion linéaire jusqu'à l'abscisse. Les temps de latence des membranes de 3,5 kDa, 25 kDa et 300 kDa sont de  $1,3 \pm 0,1$  h,  $0,50 \pm 0,04$  h et  $0,19 \pm 0,02$  h, respectivement. Ces valeurs sont parfaitement en accord avec la porosité des membranes. Le temps de latence est plus long et plus court pour les membranes possédant une porosité plus faible et plus élevée, respectivement.

**Figure 11. Détermination des temps de latence ( $\tau$ ) par extrapolation de la portion linéaire de la courbe jusqu'à l'abscisse pour les membranes de dialyse de 3,5 kDa (A), 25 kDa (B) et 300 kDa (C).**

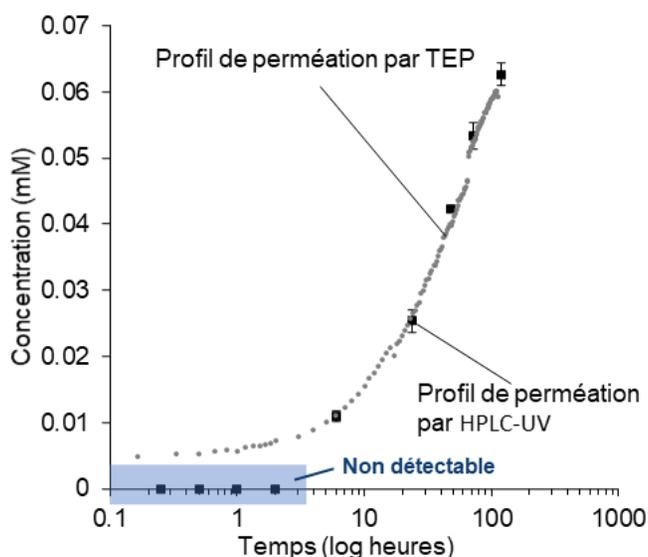


En revanche, les autres paramètres de perméation définis dans l'introduction n'ont pas été calculés puisque, d'une part, ces paramètres n'apportent aucune information pertinente dans le cadre de ce projet. D'autre part, le modèle de dose infinie décrit dans ce manuscrit n'est pas le mieux adapté pour déterminer le coefficient de diffusion et les flux pour des membranes de dialyse dont le comportement devrait inclure le phénomène d'osmose directe. Néanmoins, cette première étape du projet a permis de démontrer la faisabilité de mener des essais de perméation et d'enregistrer des profils à partir desquels les paramètres de perméation peuvent être extraits.

### 5.1.4 Comparaison des données avec une autre méthode analytique

Afin de valider la fiabilité de cette méthode analytique, celle-ci a été comparée avec les profils de perméation obtenus par analyse HPLC-UV. Pour cela, des essais de perméation ont été conduits en utilisant du Zr non radioactif et en réalisant des prélèvements ponctuels dans le CA de la même cellule de diffusion que celle utilisée dans les essais décrits précédemment (membrane utilisée : 25 kDa). Pour faciliter la comparaison, les profils obtenus par les deux méthodes sont superposés à la figure 12. Le premier résultat marquant réside dans le fait que le système de TEP est significativement plus sensible que le système HPLC-UV. En effet, la faible sensibilité du système HPLC-UV ne permet pas la détection du DFO-Zr ayant atteint le CA au cours des 6 premières heures de perméation (concentration inférieure à 0,01 nM). Cette faible limite de détection du système HPLC-UV pourrait être problématique pour l'analyse de médicaments très puissants ou de substances qui sont toxiques à de très faibles doses. Idéalement, ces composés doivent être détectés lors des toutes premières minutes de leur perméation au travers de membranes biologiques ou synthétiques, ce qui semble impossible par HPLC-UV, mais faisable par TEP. Toutefois, au-delà de 6 heures, les deux profils sont sensiblement les mêmes démontrant que le transfert de masse des molécules de DFO-<sup>89</sup>Zr s'effectue selon la même cinétique. Ainsi, ces mesures démontrent la justesse de la méthodologie mise au point en utilisant la technologie TEP.

**Figure 12.** Profils comparatifs de perméation du DFO-<sup>89</sup>Zr au travers de membranes possédant une taille de pores de 25 kDa (n = 3), réalisés par TEP et par HPLC-UV (données tirées de la mesure du CA).



Cette première partie du projet a permis la mise au point d'une cellule de diffusion possédant des dimensions lui permettant d'être introduite dans un système TEP au préalable destiné à l'imagerie des petits animaux. Des mesures de sensibilité ont démontré que ce système est capable de détecter, à l'état de traces, des éléments

émetteurs de positons, tels que le  $^{89}\text{Zr}$  (3,4 fmol). À l'aide d'un modèle de perméation simple, il a été démontré qu'il est possible d'acquérir les profils de perméation avec une très grande précision. La comparaison de ces profils avec ceux obtenus par une autre méthode analytique a mis en évidence, d'une part, la justesse de la méthode. D'autre part, la très haute sensibilité de la TEP permet la détection du perméant dès les premiers instants de la perméation, ce que la faible sensibilité des autres méthodes analytiques ne permet pas. Enfin, la possibilité d'acquérir des données en temps réel et en continu rend cette méthode très attrayante puisqu'elle limite le nombre d'opérations et augmente sensiblement la précision des résultats.

## 5.2 PARTIE 2 : Développement d'une procédure de radiomarquage de nanoparticules d'or avec l'ion $^{89}\text{Zr}$

### 5.2.1 Synthèse et caractérisation des US-AuNP

Dans cette seconde étape du projet, les US-AuNP ont été synthétisées puis radiomarquées selon le schéma décrit à la figure 7. Dans un premier temps, le HS-PEG-NHS a été fonctionnalisé avec le ligand DFO en faisant réagir la fonction succinimide (-NHS) avec la fonction amine primaire ( $-\text{NH}_2$ ) portée par le DFO. À la suite de la purification du polymère, les US-AuNP ont été synthétisées en adaptant la méthode de Brust *et al.* (1994). Cette méthode consiste à greffer *in situ* des molécules à la surface des NP d'or. Ces molécules ont pour but de stabiliser et de fonctionnaliser ces particules en une seule étape de synthèse.

La taille et la morphologie des NP ont été étudiées par DLS et par MET. Les images de MET (figure 13A) démontrent une morphologie sphérique des US-AuNP avec un cœur inorganique de  $3,3 \pm 0,1$  nm. Les mesures de DLS menées dans 3 solvants différents (eau nanopure, PBS, éthanol 70 %) démontrent des diamètres supérieurs, quelle que soit la nature du solvant (figure 13B). Ces valeurs plus élevées – en comparaison avec les analyses par MET – se justifient par la solvatation des chaînes de polymère. Il est à noter que les valeurs de diamètre hydrodynamique sont différentes selon la nature du solvant. Le diamètre hydrodynamique est le plus faible dans le PBS (13,5 nm), car ce solvant est constitué de sels qui ont un effet de relargage (séries lyotropiques). En revanche, les diamètres hydrodynamiques observés dans l'éthanol 70 % (28,2 nm) sont supérieurs à ceux observés dans l'eau nanopure (18,2 nm). Ceci est cohérent puisque l'éthanol est un meilleur solvant du PEG en comparaison avec l'eau (Hussain *et al.*, 2020 ; Stevens et Plimpton, 1998).

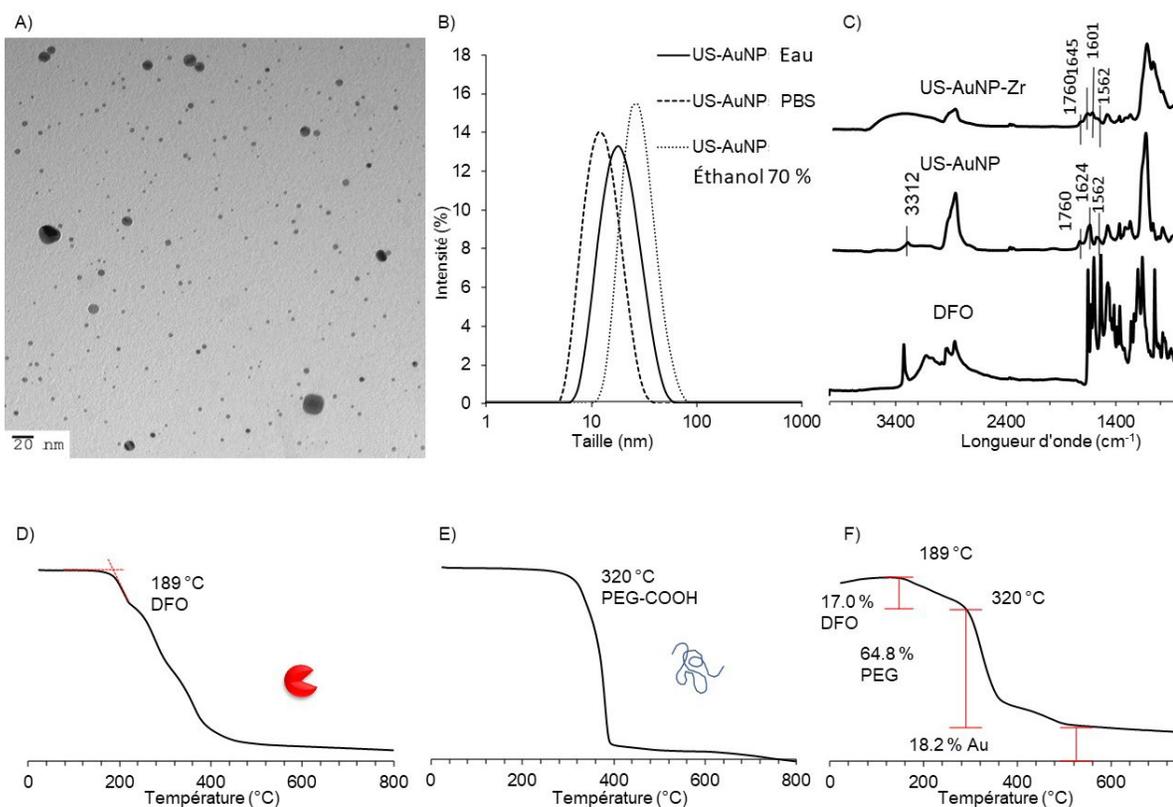
La stabilité colloïdale a été mise en évidence par la mesure du potentiel zêta des US-AuNP dispersées dans l'eau nanopure. La valeur de -31,7 mV confirme la très bonne stabilité de ces NP en solution aqueuse.

Les analyses thermogravimétriques (figure 13D-F) démontrent la réussite du couplage du PEG-DFO à la surface des NP. Le PEG et le DFO représentent respectivement 65 % et

17 % de la masse totale de l'échantillon. Le succès de ce couplage a également été mis en évidence par des analyses de FTIR et de XPS. Lors des analyses de FTIR, les bandes caractéristiques du PEG ont été révélées, ainsi que les groupes amides et hydroxamates à  $1624\text{ cm}^{-1}$  et  $1562\text{ cm}^{-1}$  (amide I et amide II respectivement), ainsi que l'amide secondaire ( $3312,0\text{ cm}^{-1}$ ). Les analyses de XPS à haute résolution ont révélé le pic O = C – N C1s du DFO à  $287,5\text{ eV}$ , confirmant le greffage du chélate aux NP.

**Figure 13. Caractérisation des US-AuNP.**

(A) Image des US-AuNP obtenue par MET. La barre d'échelle correspond à 20 nm. (B) Diamètre hydrodynamique des US-AuNP dans l'eau nanopure, le PBS et l'éthanol 70 %. (C) Spectres FTIR du DFO, des US-AuNP et des US-AuNP-<sup>89</sup>Zr. (D-F) Analyse thermogravimétrique du DFO, du HS-PEG-COOH et des US-AuNP.



**5.2.2 Radiomarquage des US-AuNP et leur caractérisation**

Le radiomarquage des US-AuNP avec le <sup>89</sup>Zr a ensuite été optimisé par une série d'expériences menées par CCM. Ces paramètres ont permis d'atteindre un rendement radiochimique de 92 % après la purification des US-AuNP-<sup>89</sup>Zr. De plus, la stabilité de la chélation a été évaluée en utilisant également la CCM. Il a été démontré que la chélation est stable au minimum 2 semaines.

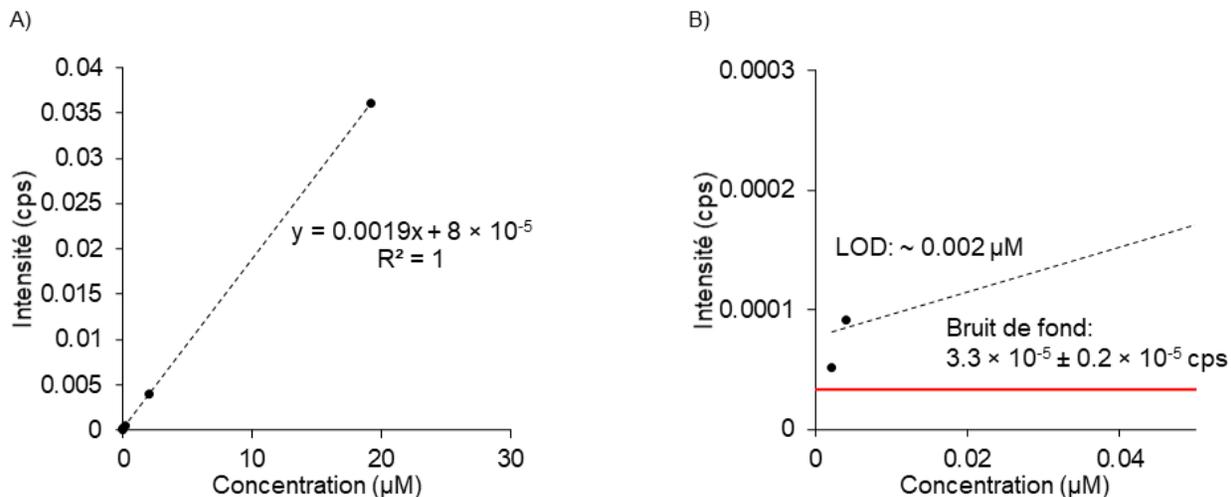
À la suite du radiomarquage, les US-AuNP-<sup>89</sup>Zr ont été caractérisées par des analyses de XPS, FTIR et MP-AES. Les analyses de XPS de la suspension de US-AuNP-<sup>89</sup>Zr ont permis notamment d'identifier le pic de Zr 3d<sub>5/2</sub> chélaté à 182,4 eV. En revanche, aucun pic n'était visible à 183,38 eV correspondant au Zr 3d<sub>5/2</sub> ionique non chélaté. Cette observation permet d'appuyer la pureté radiochimique précédemment mise en évidence par CCM, MP-AES et FTIR.

### 5.2.3 Sensibilité du système TEP aux US-AuNP-<sup>89</sup>Zr

De la même manière que dans la partie 1, la sensibilité du système TEP aux US-AuNP-<sup>89</sup>Zr a été évaluée. Pour cela, plusieurs aliquotes possédant différentes quantités de US-AuNP-<sup>89</sup>Zr ont été préparées et ont été systématiquement caractérisées par TEP et par analyse élémentaire (MP-AES) afin de quantifier les éléments Au et Zr.

En premier lieu, les analyses élémentaires ont démontré que le ratio molaire Au:<sup>89</sup>Zr de chaque aliquote a été maintenu constant à  $1:1,8 \times 10^{-5}$ . La préservation d'un rapport constant est essentielle pour valider la méthodologie. La courbe de corrélation reliant l'intensité mesurée en TEP et la concentration en Au déterminée par MP-AES est représentée à la figure 14 en utilisant plusieurs échelles de concentration en Au. La figure 14A démontre une linéarité entre ces deux paramètres, tandis que la figure 14B démontre une sensibilité du TEP d'environ 2 nM en Au. Les LOD rapportées dans la littérature pour des mesures réalisées par ICP-MS, sont généralement de l'ordre de 5 nM pour des sels d'or dans l'eau nanopure. Des valeurs beaucoup plus élevées sont plus fréquemment rapportées pour des solutions contenant une grande quantité de molécules organiques et d'ions interférents. Par conséquent, l'analyse par TEP, développée dans cette étude, permet d'atteindre une sensibilité 10 à 100 fois supérieure pour la détection des US-AuNP, en comparaison avec la MP-AES et l'ICP-MS. Cette sensibilité pourrait d'ailleurs être encore améliorée en intégrant le signal sur des périodes plus longues.

**Figure 14. (A) Courbe de corrélation reliant l'intensité du signal TEP et la concentration en Au déterminée par analyse élémentaire (MP-AES). (B) Grossissement des échelles de concentration en Au et de l'intensité permettant la mise en évidence de la LOD.**



Cette seconde étape du projet aura permis de valider la préparation des US-AuNP-<sup>89</sup>Zr selon une procédure simple, efficace et reproductible, facile à mettre en place dans tout laboratoire de médecine nucléaire. Les mesures de sensibilité du TEP ont démontré une LOD des US-AuNP-<sup>89</sup>Zr largement inférieure aux valeurs généralement reportées dans la littérature par d'autres méthodes analytiques (ICP-MS). La validation de cette étape permet la poursuite du projet vers les essais de perméation.

### 5.3 PARTIE 3 : Essais de perméation par TEP des NP au travers de gants de nitrile et de latex

#### 5.3.1 Sélection des membranes

Afin de démontrer la faisabilité de la nouvelle méthode de mesure à haute sensibilité du passage de contaminants nanométriques à travers des gants, une sélection de gants à tester a été réalisée en consultant les principales cliniques de médecine nucléaire des centres hospitaliers universitaires de Québec et de Montréal (CHU de Québec – UL; CHUM). Ce processus de consultation a permis d'identifier des gants médicaux, chirurgicaux ou d'examen, tous de classe 2, selon le règlement sur les instruments médicaux. La consultation menée aux CHU de Québec et de Montréal a révélé que les gants d'examen utilisés dans les cliniques de médecine nucléaire étaient principalement en nitrile, un matériau largement préféré par les travailleurs œuvrant en clinique. Ce matériau de base est aussi le plus répandu parmi les manufacturiers de gants pour les cliniques biomédicales et les laboratoires de recherche biomédicaux. Un vaste choix de produits à base de nitrile était donc disponible pour l'étude, un avantage puisque le mode

de fabrication des gants semble impacter leur performance. De plus, l'épaisseur est une variable clé pour la résistance à la perforation et à la perméation.

Lors d'une première étape, l'identification de candidats potentiels s'est focalisée sur les gants destinés aux applications biomédicales et possédant des exigences minimales en termes de dimension, de résistance mécanique et de détection de trous (gants conformes aux normes génériques ISO 10282, ISO 11193-1, ASTM D 6319, EN 455-1 à EN 455-4). Des gants certifiés ou ayant subi des essais selon des normes plus spécifiques ont également été recherchés. Ces gants ont fait l'objet des tests décrits dans les normes suivantes : ASTM F1671 et ISO 16604 pour la pénétration de pathogènes sanguins (virus), ASTM F739 et EN 374-3 (maintenant ISO EN 16523-1) pour la perméation de composés variés, et enfin ASTM D6978 pour la perméation de médicaments chimiothérapeutiques (ASTM International D6978-05[2019], 2019a ; ASTM International F739-20, 2020b ; ASTM International F1671/F1671M-13, 2013 ; CEN EN 16523-1:2015, 2015 ; ISO 16604:2004, 2004).

De plus, afin d'identifier des fournisseurs respectant les normes génériques choisies par le Canada (ISO 10282, ISO 11193-1), la liste fournie par Services publics et Approvisionnement Canada a été consultée (ISO 10282:2014, 2014 ; ISO 11193-1:2020, 2020). Chacun des fournisseurs a ensuite été contacté par courriel et par téléphone afin d'obtenir les informations sur leurs produits en nitrile ainsi que celles relatives aux normes spécifiques. Une démarche similaire a été menée auprès des principaux manufacturiers de gants dont la gamme de produits dépasse le domaine médical. Le tableau 5 présente la synthèse des informations recueillies lors de ce premier processus de sélection des gants. Parmi tous les gants médicaux, chirurgicaux ou d'examen identifiés lors du recensement (gants de classe 2, selon le règlement sur les instruments médicaux), seuls 7 gants sur un total de 40 gants disponibles commercialement sont conformes aux normes de perméation des liquides et des gaz (ASTM International F739-20, 2020b ; CEN EN 16523-1:2015, 2015).

**Tableau 5. Identification des gants pouvant être sélectionnés pour l'étude**

Nombre total de manufacturiers identifiés pour le marché canadien	Nombre total de modèles disponibles (recensés)	Gamme d'épaisseur des gants (µm)	NQA*	Nombre total de gants se conformant aux normes génériques			Nombre total de gants se conformant aux normes spécifiques		
				EN 455	ISO 10282 ISO 11193-1	ASTM D 6319	ASTM F 1671 ISO 16604	ASTM F 739, EN 374-3	ASTM D 6978
7	40	50-180	0,65-2,5	18/40	20/40	27/40	12/40	7/40	23/40

\*NQA : niveau de qualité acceptable selon le test d'étanchéité à l'eau ; traduit un niveau de qualité dans la production industrielle. Plus le NQA est petit, plus la qualité est élevée (voir ASTM International F739-20, 2020b).

Lors d'une seconde étape, des gants de latex et de nitrile largement utilisés dans les cliniques et dans les laboratoires de nanotechnologie biomédicale ont été sélectionnés comme membranes polymères à utiliser pour cette étude. Tous sont conformes à au moins une des différentes normes appliquées par le secteur de la fabrication de gants en Amérique du Nord (tableau 6). Pour la présente étude, 3 types de gants en nitrile ont été choisis. Les gants de nitrile de marque Primatouch® ont été choisis comme gants de référence normalisés par l'Office des normes générales du Canada ; ces gants suivent la norme ISO 11193-1 ainsi que d'autres normes permettant de contrôler les paramètres physiques comme les dimensions, la résistance mécanique et la détection de trous. Les gants de nitrile Sterling SG® et Aquasoft® ont été sélectionnés pour être comparés aux gants de référence. Ceux-ci sont largement utilisés dans les hôpitaux et les cliniques. Finalement, des gants de latex de marque Microflex® et Evolution One®, largement utilisés dans les hôpitaux et dans les laboratoires ont complété l'échantillon. Ils sont plus épais que les gants de nitrile et ont été sélectionnés à titre de gants contrôle.

**Tableau 6. Liste des membranes de gants utilisées pour les mesures de perméation**

Matériaux	Modèles (abréviation)	Épaisseurs (µm)		CGSB	ASTM D6319	ASTM F739	ASTM F1671	ASTM D6978
		Fabricants	Mesurées					
Nitrile	Primatouch® (N1)	78	52 ± 3	oui	oui	-	-	oui
	Sterling SG® (N2)	70	53 ± 3	-	oui	oui	oui	-
	Aquasoft® (N3)	70	43 ± 3	-	-	oui	oui	-
				CGSB	ASTM D3578	EN 420:2003	FDA 21	FDA 510(k)
Latex	Microflex® Evolution One® (L1)	140	105 ± 2	-	oui	oui	oui	oui

**ONGC:** Office des normes générales du Canada ; suit des normes telles que la norme ISO 11193-1 régissant les dimensions et les paramètres physiques (résistance mécanique, détection des trous, etc.)

**ASTM D6319 :** Couvre la fabrication et la qualité des gants (dimensions, épaisseur, résistance mécanique, etc.)

**ASTM F739 :** Test standard pour la perméation de liquides et de gaz à travers les matériaux des gants ; contact continu du matériau des gants avec la substance testée

**ASTM F1671 :** Test standard de résistance du matériau des gants à la pénétration d'agents pathogènes véhiculés par le sang

**ASTM D6978 :** Test standard de résistance du matériau des gants aux agents chimiothérapeutiques

**ASTM 3578 :** Spécification standard pour les gants de caoutchouc

**EN 420:2003 :** Exigences générales pour le matériau des gants, la taille, les dimensions, le pH et la composition

**FDA 21:** Examen physique général des gants

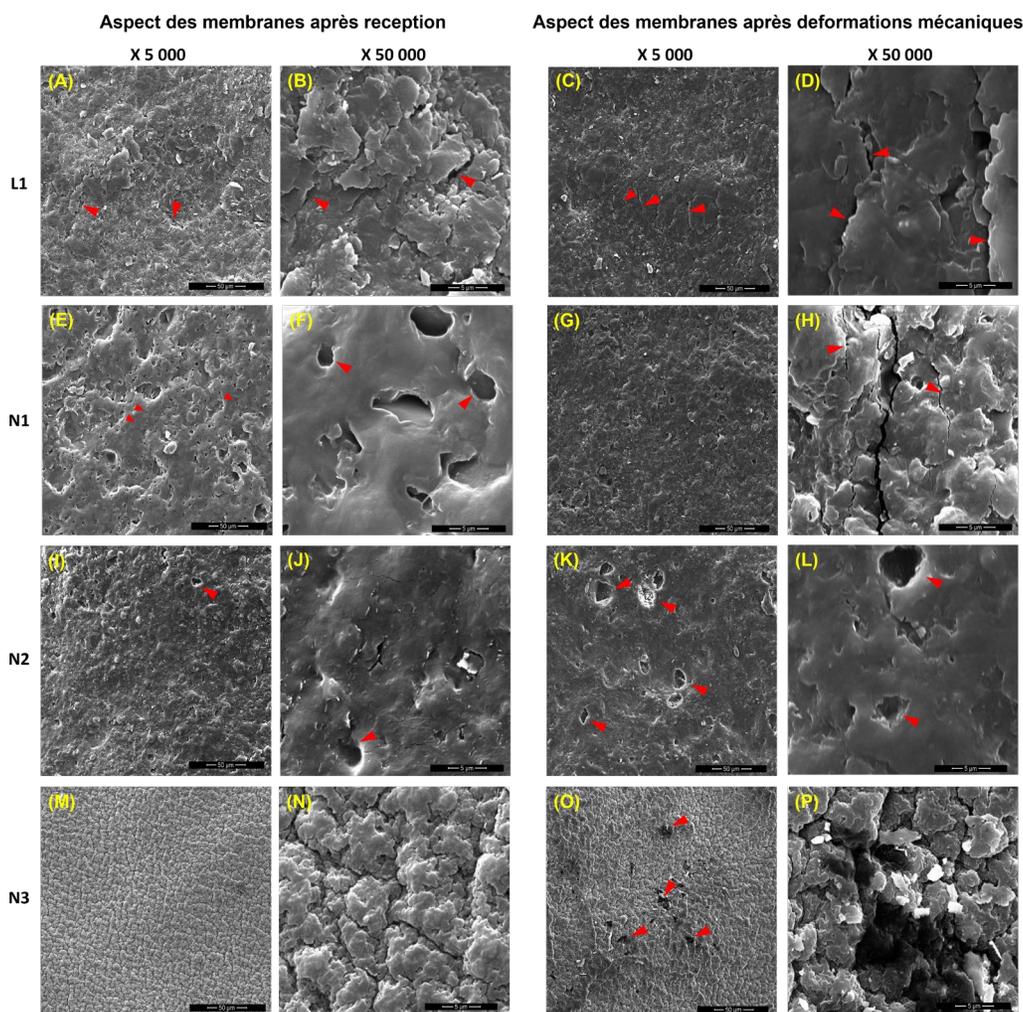
**FDA 510(k):** Examen physique général des gants

### 5.3.2 Caractérisation des membranes

Un traitement de sollicitation mécanique a été appliqué pour préparer les membranes des gants avant leur montage dans la cellule de diffusion. En effet, lorsque des gants sont portés par les ouvriers, ils sont étirés par la flexion de leurs mains. Pour simuler l'usure pendant une période d'une heure, les membranes ont été déformées mécaniquement par un protocole adapté de la littérature (voir section 4.3.2). Afin d'observer l'effet de ce traitement sur la morphologie des membranes, des analyses par MEB ont été menées sur chacune d'entre elles (figure 15), avant (colonnes 1 et 2) et après (colonnes 3 et 4) le traitement.

**Figure 15.** Images MEB des membranes de latex avant (A-B) et après (C-D) le traitement ; de nitrile N1 avant (E-F) et après (G-H) le traitement ; de nitrile N2 avant (I-J) et après (K-L) le traitement ; de nitrile N3 avant (M-N) et après (O-P) le traitement.

Grossissement de x5k (gauche) et x50k (droite). Les flèches rouges indiquent des structures significatives (décrites dans le texte).



Les images MEB des surfaces des trois membranes de nitrile ne montrent pas toutes la même texture. En revanche, ces membranes possèdent toutes des trous ou des villosités distribués différemment. Les sollicitations mécaniques des membranes de nitrile N1 conduisent à des modifications morphologiques significatives. Initialement, la surface de ces membranes est légèrement texturée et constituée de trous arrondis (figure 15E et 15F) qui semblent évoluer vers une surface plus lisse, mais dans laquelle des fissures apparaissent (figure 15G et 15H). Les membranes de nitrile N2 possèdent initialement des trous distribués de façon irrégulière (figure 15I et 15J). Après déformation mécanique, de grandes cavités apparaissent et les trous de surface sont élargis (figure 15K et 15L). La surface des membranes de nitrile N3 possède une texture uniforme (figure 15M et 15N) qui, après étirement, est altérée par la génération de grands pores (figure 15O et 15P). Enfin, en raison de leur élasticité plus élevée, les signes d'altération des membranes de latex (figure 15A-D) sont moindres en comparaison de ceux notés par les membranes de nitrile. Ces analyses démontrent qu'une sollicitation mécanique induit des changements morphologiques significatifs qui pourraient favoriser la diffusion des NP. Ces observations permettront d'appuyer les résultats de perméation.

L'analyse EDX des membranes (tableau 7) a révélé la présence de plusieurs éléments provenant de minéraux souvent ajoutés aux polymères, tels que le  $\text{CaCO}_3$  et  $\text{TiO}_2$  utilisés notamment comme colorants (Brown et Gibbs, 1955). Le Zn était présent dans chaque membrane de nitrile, mais pas dans celle de latex. Le Zn est attribué au mécanisme de réticulation lors de la production des gants de nitrile. Les membranes de nitrile N2 ont démontré la présence de Cl, Ca, Ti et Zn avec des teneurs respectives de 0,6, 0,4, 0,2 et 0,1 %. Enfin, de faibles teneurs en Ca et en Zn ont été trouvées dans les membranes de nitrile N3, respectivement de 0,3 % et 0,2 %.

**Tableau 7. Analyse élémentaire par EDX des différents types de gants : moyenne de plus de 10 points analysés dans 3 zones différentes sur chaque échantillon de gant ; chacune des mesures a été réalisée sur la ligne  $K\alpha$  de chaque élément.**

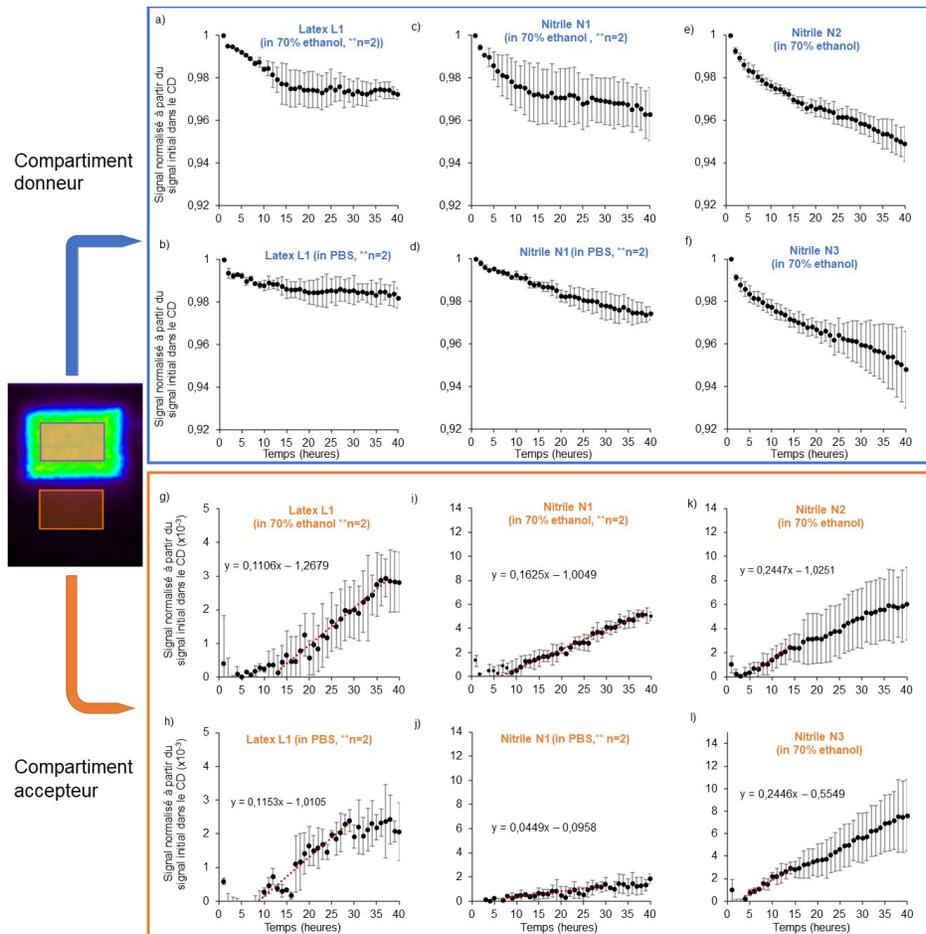
	Latex L1 (%)	Nitrile N1 (%)	Nitrile N2 (%)	Nitrile N3 (%)
C	81,9	89,1	92,8	90,1
N	1,4	3,8	1,9	3,8
O	13,3	5,7	3,4	5,1
S	0,5	0,4	0,6	0,4
Cl	0,2	0,0	0,6	0,1
Ca	2,7	0,4	0,4	0,3
Ti	-	0,4	0,2	-
Zn	-	0,1	0,1	0,2

### 5.3.3 Essais de perméation

Les essais de perméation ont été menés dans le PBS et l'éthanol 70 % en utilisant le dispositif décrit à la section 4.1.1. Tous les essais ont été effectués en *triplicata*. Ces deux solvants ont été sélectionnés en raison de leur usage courant en pratique clinique et dans les laboratoires biomédicaux. À la suite du traitement mécanique, les membranes de polymère ont été installées sur les cassettes puis insérées entre les deux compartiments de la cellule de diffusion. L'activité radioactive dans le CD et le CA a été mesurée avec le système TEP tout au long du processus de perméation. Les profils obtenus à la figure 16 montrent la même tendance que celle observée pour les profils présentés à la figure 10B et 10C. Pour toutes les membranes, la déplétion en US-AuNP dans le CD est inférieure à 6-7 %, ce qui justifie l'utilisation du modèle de dose pseudo-infinie défini dans l'introduction (voir section 2.5).

**Figure 16. Profils de perméation des US-AuNP-<sup>89</sup>Zr dans l'éthanol 70 % et dans le PBS, acquis par imagerie TEP dans le CD et dans le CA.**

À gauche : coupe d'une image TEP typiquement utilisée pour l'extraction du signal dans les volumes correspondant au CD et au CA.



Pour les membranes de latex, l'augmentation de l'intensité dans le CA est vraiment faible au cours des quinze premières heures, suivie d'une augmentation plus marquée. Enfin, un plateau semble être atteint après 30 heures de perméation. Les intensités observées lors des essais de perméation dans le PBS et dans l'éthanol 70 % ne semblent pas être significativement différentes.

Pour les membranes de nitrile, une augmentation constante de l'intensité est observée dans le CA et ceci, quelque soit le type de membrane et de solvant. En revanche, la nature du solvant semble avoir un effet sur la cinétique de perméation puisque, pour la membrane de nitrile N2, l'intensité mesurée dans le CA est plus faible lors des essais menés dans le PBS.

En dépit du fait que l'incertitude observée pour chaque instant est relativement grande, ces profils démontrent encore une fois la capacité de cette méthode à détecter en temps réel la déplétion du CD et l'entrée des particules dans le CA. En comparant les profils de perméation obtenus avec les membranes de dialyse (figure 10B et 10C) avec ceux obtenus à la figure 16, il est évident que les incertitudes observées lors des essais de perméation avec les gants ne sont pas liées à la méthode, mais plutôt à la grande variabilité morphologique des membranes de gants. Cette variabilité est probablement exacerbée par l'étape de préparation des membranes (sollicitations mécaniques).

Afin de relier les intensités mesurées par le système TEP à la concentration en Au dans les solutions, une courbe de corrélation a été réalisée (voir figure 14, section 5.2.3). La figure 17 représente les profils de perméation de chaque membrane. Les cercles rouges indiquent le temps de latence au début de la perméation,  $\tau$ . Ces valeurs ont été obtenues en extrapolant la partie linéaire des profils de perméation jusqu'à l'abscisse.

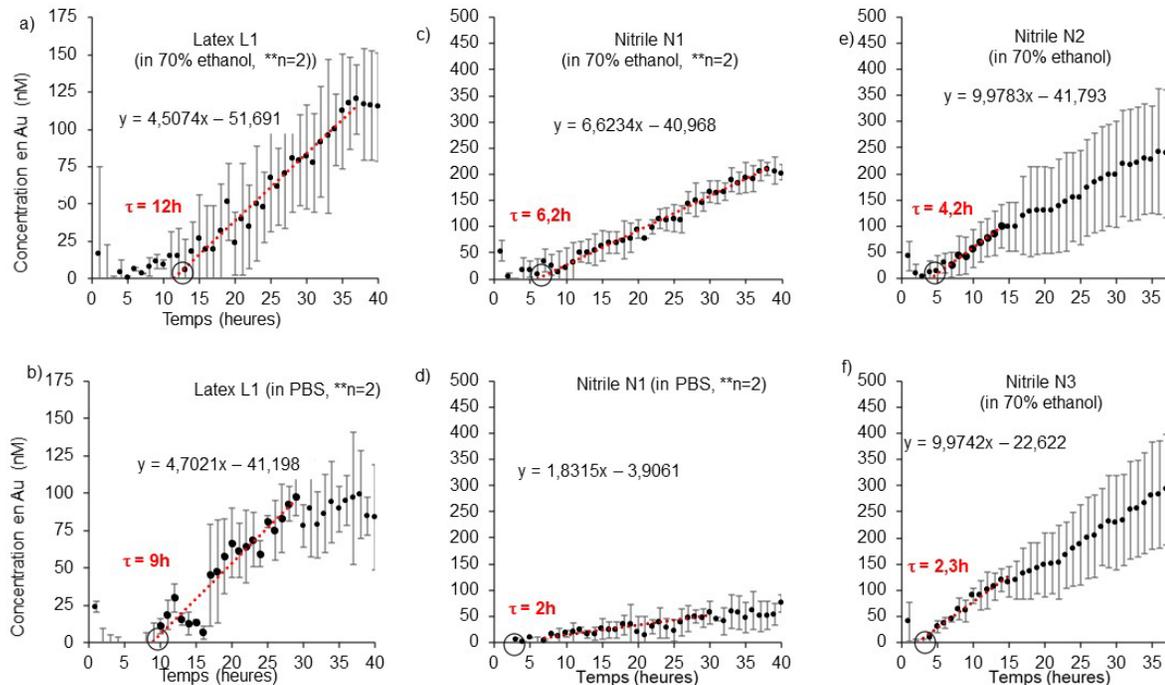
Pour une concentration initiale de 40,8  $\mu\text{M}$  dans le CD, la quantité d'Au détecté dans le CA n'excède jamais 500 nM après 40 heures de perméation. Le système n'atteint donc à aucun moment un équilibre des concentrations entre les compartiments.

Pour les membranes de latex, le temps de latence au début de la perméation,  $\tau$ , est très long en comparaison avec les valeurs observées pour les membranes de nitrile ;  $12 \pm 2$  heures dans l'éthanol 70 % et  $9 \pm 1$  h dans le PBS. Ce résultat est cohérent avec l'épaisseur plus importante et les modifications morphologiques moins marquées observées en MEB pour les membranes de latex. Pour les membranes de nitrile, une disparité des valeurs de  $\tau$  est observée entre les différentes membranes, avec des valeurs comprises entre 2 et 6,2 heures. Toutefois, pour la membrane N1, l'effet du solvant observé pour les membranes de latex est également observé puisque la valeur de  $\tau$  est significativement plus élevée dans l'éthanol 70 % ( $6,2 \pm 0,8$  heures) que dans le PBS ( $2 \pm 1$  heures).

À partir des profils de la figure 17, les paramètres cinétiques définis dans l'introduction ont été extraits et reportés dans le tableau 8. Pour toutes les membranes, les coefficients de diffusion,  $D$ , sont compris entre  $7,3 \times 10^{-7}$  et  $2,1 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$ . Ces valeurs sont plus faibles que celles reportées dans la littérature pour décrire la perméation de solvants organiques ( $7,6 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$  à  $2,2 \times 10^{-3} \text{ cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$ ; Chao *et al.*, 2003) ce qui est logique si l'on considère la taille beaucoup plus élevée des particules dans le cadre de ce projet.

Dans l'éthanol 70 %, les valeurs d'afflux total moyen,  $\bar{J}_T$ , sont environ deux fois supérieures pour les membranes de latex L1 que pour les membranes de nitrile. En revanche dans le PBS, les valeurs sont similaires pour les membranes L1 et N1. Finalement, après 40-42 heures de perméation, le flux total des US-AuNP au travers des gants est compris entre 0,41 et 1,7 nmol en Au. En considérant la quantité d'au introduite au début de chaque essai dans le CD (224,4 nmol), la quantité totale d'au ayant atteint le CA est plus importante lorsque les membranes L1 et N1 sont plongées dans l'éthanol 70 % plutôt que dans le PBS ; 0,6 nmol et 1,12 nmol pour les membranes L1 et N1 respectivement dans l'éthanol 70 % contre 5 nmol et 0,41 nmol dans le PBS. Finalement, dans l'éthanol 70 %, les flux totaux sont similaires pour toutes les membranes de nitrile avec des valeurs de 1,12 nmol, 1,4 nmol et 1,7 nmol pour les membranes N1, N2 et N3 respectivement.

**Figure 17. Profils de perméation des US-AuNP-<sup>89</sup>Zr au travers des membranes polymères dans l'éthanol 70 % - L1 (A), N1 (B), N2 (C) et N3 (F) et le PBS - L1 (D) et N1 (E).**  
Concentration d'au (nM) obtenue à partir du signal mesuré par TEP. Cercle rouge : délai avant le début de la perméation (latence).

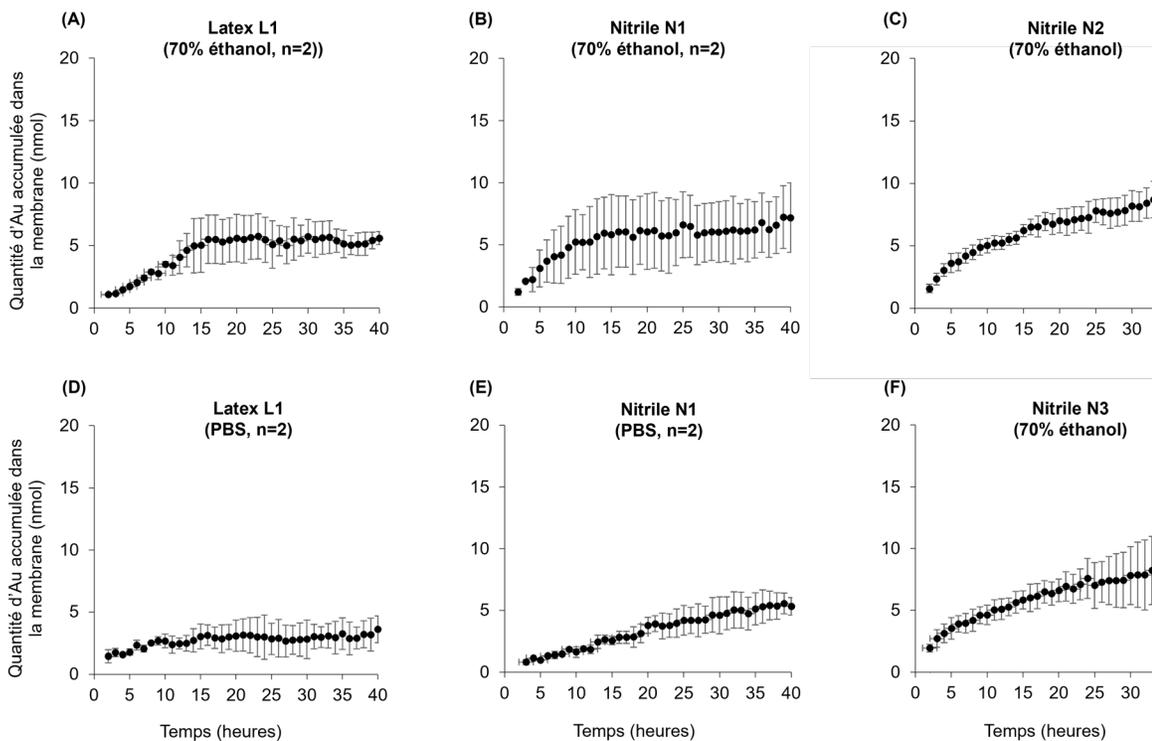


Dans le cadre de ces essais, la sensibilité de détection de l'ordre du nanomolaire est du même ordre de grandeur que celle que peut atteindre la méthode par ICP-MS, la méthode la plus sensible pour l'analyse élémentaire. Toutefois, la méthode par TEP présente les avantages d'être menée en temps réel et sans échantillonnage des CA et CD. Ces résultats démontrent le fort potentiel de la méthodologie développée pour la détection d'une grande variété de contaminants au travers de membranes biologiques ou synthétiques. La détection de molécules à très faibles concentrations (nanomolaire) en continu et en temps réel est essentielle, par exemple, pour la détection de molécules hautement toxiques au travers des équipements de protection individuelle ou pour la détection de molécules très puissantes au travers de barrières biologiques (peau, intestins, etc.).

À partir des figures 16 et 17, il apparaît évident qu'une partie des US-AuNP-<sup>89</sup>Zr quittant le CD n'atteint pas le CA. Cette différence révèle une forte rétention des NP à l'intérieur des membranes. Cette quantité a été quantifiée pour chaque membrane en soustrayant à la quantité d'Au initiale, les quantités quittant le CD et les quantités entrant dans le CA. Ainsi, la figure 18 représente les profils d'accumulation des US-AuNP-<sup>89</sup>Zr pour chaque membrane dans leur solvant respectif. À la fin de chaque essai de perméation, les membranes ont été collectées, abondamment rincées, et leur activité a été mesurée à l'aide du compteur gamma. Les valeurs ont été converties en quantité d'Au grâce aux courbes de corrélation (voir figure 14). Pour les membranes de latex L1, des accumulations de  $5,0 \pm 2,0$  nmol et  $3,2 \pm 1,8$  nmol d'Au ont été observées dans l'éthanol 70 % et le PBS, respectivement, tandis que pour les membranes de nitrile N1, ces accumulations étaient respectivement de  $3,9 \pm 1,6$  nmol et  $4,3 \pm 1,5$  nmol. Pour les membranes de nitrile N2 et N3 dans l'éthanol 70 %, les accumulations étaient de  $6,8 \pm 2,7$  nmol et  $5,8 \pm 2,3$  nmol, respectivement. Globalement, ces valeurs obtenues en dehors des mesures par TEP, grâce au compteur gamma, sont très bien corrélées avec les courbes d'accumulation des US-AuNP-<sup>89</sup>Zr obtenues à partir des mesures de TEP (voir figure 16).

**Figure 18. Profils d'accumulation des US-AuNP-<sup>89</sup>Zr dans les membranes polymères.**

Les quantités d'Or accumulées (en nmol) dans les membranes ont été obtenues en soustrayant à la quantité initiale, les quantités quittant le CD et les quantités entrant dans le CA.



**Tableau 8. Paramètres de perméation mesurés avec des gants en latex et en nitrile, immergés dans l'éthanol 70 % et une solution saline tampon phosphate (PBS)**

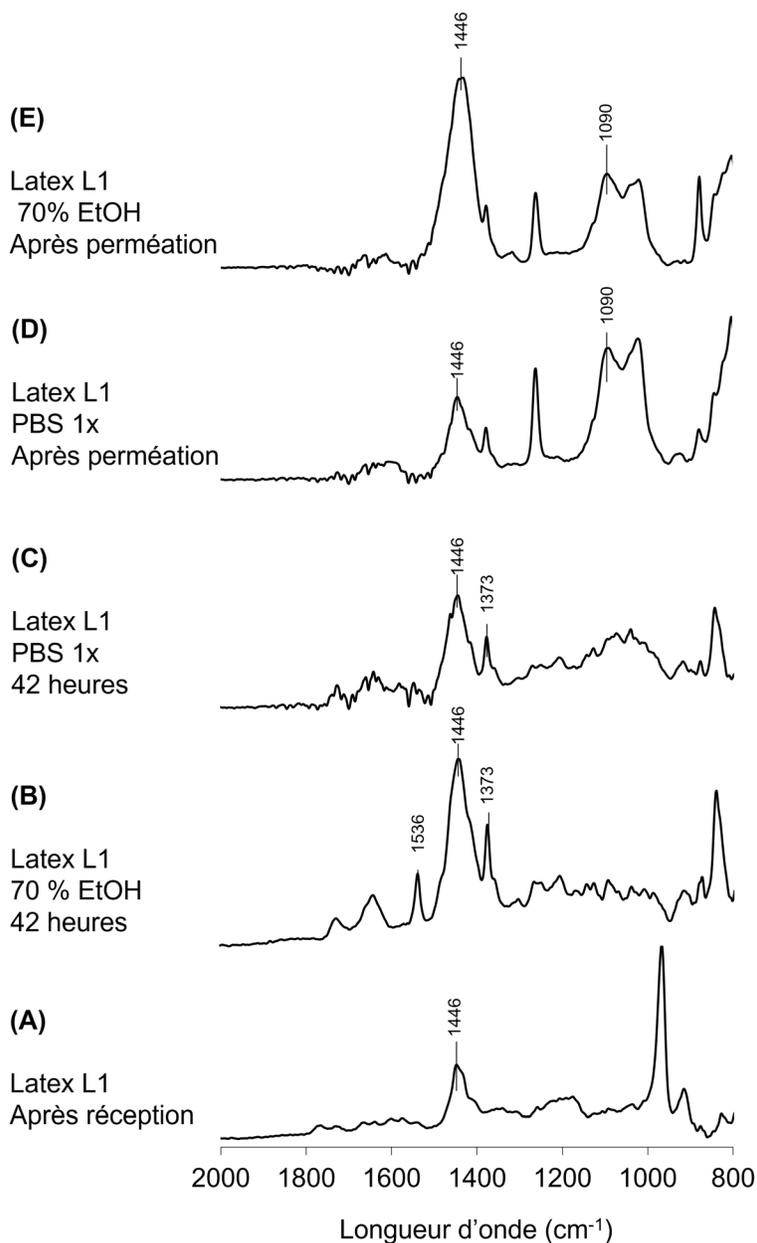
	Type de gants					
	Éthanol 70 %				PBS	
	Latex L1	Nitrile N1	Nitrile N2	Nitrile N3	Latex L1	Nitrile N1
Constantes						
Épaisseur ( $x$ ) (mm)	0,105 ± 0,002	0,052 ± 0,003	0,053 ± 0,003	0,043 ± 0,003	0,105 ± 0,002	0,052 ± 0,003
Temps de latence au début de la perméation ( $\tau$ ) (h)	12 ± 2	6,2 ± 0,8	4,2 ± 0,8	2,3 ± 0,7	9 ± 1	2 ± 1
Coefficient de diffusion ( $D$ ) ( $x^2/6\tau$ ) (cm <sup>2</sup> · h <sup>-1</sup> )	1,6 ± 0,2 × 10 <sup>-6</sup>	7,3 ± 0,9 × 10 <sup>-7</sup>	1,1 ± 0,2 × 10 <sup>-6</sup>	1,4 ± 0,5 × 10 <sup>-6</sup>	2,1 ± 0,6 × 10 <sup>-6</sup>	2 ± 2 × 10 <sup>-6</sup>
Afflux en régime permanent ( $J_{ss}$ ) (nmol·cm <sup>-2</sup> · h <sup>-1</sup> )	0,0079 ± 0,000 4	0,0116 ± 0,000 3	0,017 ± 0,001	0,017 ± 0,001	0,0082 ± 0,000 7	0,0032 ± 0,000 2
Afflux total moyen ( $\bar{J}_T$ ) (nmol·cm <sup>-2</sup> · h <sup>-1</sup> )	0,005 ± 0,002	0,0089 ± 0,000 6	0,011 ± 0,005	0,014 ± 0,006	0,004 ± 0,002	0,0033 ± 0,000 7
Flux total de US-AuNP lors des 40 h de perméation (nmol)	0,6 ± 0,2	1,12 ± 0,08	1,4 ± 0,7	1,7 ± 0,7	0,5 ± 0,2	0,41 ± 0,09

### 5.3.4 Essais post-perméation

À la suite des essais de perméation, les membranes ont été collectées puis analysées par FTIR. Il est à noter qu'une analyse par FTIR a également été réalisée pour évaluer l'effet de 42 h d'immersion des membranes dans les deux fluides (sans les NP). L'évolution des spectres FTIR après perméation est illustrée sur les figures 19 et 20. Le latex est constitué de polyisoprène réticulé par des ponts de soufre. Les chaînes de polymère constituent généralement 94 % de la membrane, les lipides (1,5 à 3 %), les glucides (0,4 %), les protéines (2 %) et les minéraux forment le reste avec 0,2 % (Rolere *et al.*, 2015). En raison de leur nature allergène, la surface interne des membranes de latex est généralement modifiée par différents traitements afin d'atténuer les réactions allergènes, ce qui explique une différence de composition observée par FTIR (données non incluses dans le rapport). Après immersion dans l'éthanol 70 %, les spectres FTIR des surfaces externes sont demeurés inchangés et ont démontré certaines bandes caractéristiques : la bande à  $1536\text{ cm}^{-1}$  correspondant à la flexion dans le plan de la liaison N — H et à l'étirement dans celui de la liaison C — N de l'amide II ; la bande à  $1446\text{ cm}^{-1}$  correspondant aux déformations  $-\text{CH}_2$  ; la bande à  $1373\text{ cm}^{-1}$  correspondant aux déformations asymétriques  $-\text{CH}_3$  (Dinsmore et Smith, 1948 ; Lu et Hsu, 1987 ; Rolere *et al.*, 2015). Ceci est une indication de la dégradation et de l'amincissement de la membrane. L'immersion dans du PBS n'a pas affecté les spectres FTIR des membranes de latex, à l'exception d'une bande à  $1373\text{ cm}^{-1}$  à la surface interne, correspondant à une déformation asymétrique de  $-\text{CH}_3$  (figure 19). Dans l'ensemble, la dégradation des membranes en latex était plus forte dans l'éthanol 70 % que dans le PBS (figure 19B et 19C). Après perméation des US-AuNP, la bande caractéristique à  $1100\text{ cm}^{-1}$ , correspondant à l'éther aliphatique des chaînes de PEG (C — O — C), a démontré l'accumulation des US-AuNP dans les membranes (figure 19C et 19E) (Shameli *et al.*, 2012).

Les membranes en nitrile sont généralement constituées de copolymères de poly(acrylonitrile-co-butadiène). Le rapport molaire entre les deux monomères est variable et dépend de chaque fabricant. Dans certains cas, des monomères de butadiène carboxylique sont également utilisés. Les chaînes de polymère sont généralement assemblées par réticulation ionique impliquant des fonctions carboxylates de  $\text{Zn}^{\text{II}}$ , des ponts de soufre ou les deux. L'élément Zn a d'ailleurs été détecté par EDX dans toutes les membranes de nitrile utilisées dans cette étude (tableau 7) et les bandes caractéristiques des étirements asymétriques et symétriques du carboxylate de  $\text{Zn}^{\text{II}}$  ont été détectées par FTIR à  $1577\text{ cm}^{-1}$  et  $1535\text{ cm}^{-1}$ , respectivement. Ces bandes sont des indicateurs d'interactions ioniques entre le  $\text{Zn}^{\text{II}}$  et les groupes  $-\text{COOH}$  des membranes. En effet, une différence de  $\sim 100\text{ cm}^{-1}$  entre les vibrations d'étirement asymétriques et symétriques du carboxylate métallique indique une interaction ionique entre les groupes  $\text{Zn}^{\text{II}}$  et  $-\text{COOH}$  selon Létourneau *et al.* (2012).

**Figure 19. Spectres FTIR de la face intérieure des gants en latex (L1) (de 2000 à 800  $\text{cm}^{-1}$ ), après différents traitements (A à E).**



Les spectres FTIR du nitrile étaient similaires dans toutes les conditions, et ce, à la fois pour les surfaces intérieures et extérieures des gants (données non incluses dans ce rapport). Les spectres FTIR avant immersion ont montré des bandes caractéristiques à 2240, 1577, 1535 et 1440  $\text{cm}^{-1}$ , correspondant à l'élongation  $\text{-C}\equiv\text{N}$  de la fonction nitrile, aux étirements du carboxylate de  $\text{Zn}^{\text{II}}$  asymétrique et symétrique, et à la déformation dans le plan  $\text{-CH}$ , respectivement (figure 20) (Laskowska *et al.*, 2014). Les bandes associées aux groupes carboxylate de  $\text{Zn}^{\text{II}}$  ne possèdent pas de « vraies » liaisons  $\text{C}=\text{O}$ , ni  $\text{C}-\text{O}$  (on appelle ces liaisons des hybrides de résonance [Smith, 2018]). Après 42 heures

d'immersion avec l'éthanol 70 %, les spectres du nitrile N1 et du nitrile N3 ont démontré une bande d'absorption à  $1604\text{ cm}^{-1}$ , correspondant à la formation de liaisons hydrogène entre l'alcool -OH de l'éthanol et le groupe carboxylate ionique de  $\text{Zn}^{\text{II}}$  (figure 20A à 20C ; 42 heures dans l'éthanol 70 %). Avec le nitrile N2 dans l'éthanol 70 % et le nitrile N1 dans le PBS, la liaison carboxylate ionique à  $1577\text{ cm}^{-1}$  semble être complètement décalée à  $1594\text{ cm}^{-1}$  (figure 20A ; 42 heures dans le PBS). Ce décalage pourrait également être attribué à la formation de liaisons hydrogène avec la fonction alcool -OH, mais également à l'oxydation de la bande C=C à  $1577\text{ cm}^{-1}$  en fonction C=O à  $1604\text{ cm}^{-1}$  qui se caractérise par le déplacement lorsque les membranes sont dans l'éthanol 70 %. Dans les deux cas, ce sont des indications de dégradation du polymère qui semble être plus marquée dans l'éthanol 70 % par rapport au PBS.

Les spectres FTIR des membranes de latex et de nitrile avant les études de perméation, ont révélé une absence de bandes dans la région  $-1100\text{ cm}^{-1}$  (figures 19 et figure 20). Après les essais de perméation, une forte bande allant de  $1090$  à  $1100\text{ cm}^{-1}$  apparaît, correspondant à la bande caractéristique de l'étirement des liaisons ester aliphatiques C-O-C du PEG. Cette observation atteste de la rétention des US-AuNP- $^{89}\text{Zr}$  dans les membranes. Cette bande, généralement observée à  $1100\text{ cm}^{-1}$ , est légèrement décalée à  $1090\text{ cm}^{-1}$  (Shameli *et al.*, 2012). Dans les membranes de nitrile, les bandes de carboxylate de  $\text{Zn}^{\text{II}}$  à  $1577$  et  $1535\text{ cm}^{-1}$ , ont disparu (figure 20A à 20C). De plus, de nouvelles bandes sont observables dans les membranes de nitrile N1 et nitrile N3 à  $1604$  et  $1621\text{ cm}^{-1}$ , respectivement. Dans le nitrile N2, deux nouvelles bandes intenses sont observables à  $1670$  et  $1612\text{ cm}^{-1}$ . Ces différences ont été attribuées aux vibrations d'étirement de la fonction carbonyle (-COOH), qui révèle la rupture des liaisons carboxylate de  $\text{Zn}^{\text{II}}$  et la libération résultante de groupes carboxyliques liés à l'hydrogène. Ce mécanisme est illustré schématiquement sur la figure 20D. L'apparition des bandes d'étirement des liaisons C – O à  $1259$ ,  $1315$  et  $1259\text{ cm}^{-1}$  pour les nitriles N1, N2 et N3, respectivement, appuie encore cette hypothèse. L'apparition de doubles liaisons dans le nitrile N2 pourrait être attribuée à la présence de différents états d'hydrogénation dans les groupes carboxyliques. Le DFO présent à la surface des US-AuNP peut générer des liaisons avec le  $\text{Zn}^{\text{II}}$  tout en libérant des groupes butadiène carboxyliques (Alrefaie *et al.*, 1994 ; Kontoghiorghes et Kontoghiorghes, 2020).



## 6. DISCUSSION

Les gants en nitrile et en latex sont largement utilisés dans les hôpitaux, dans les cliniques et dans les centres de recherche biomédicale. De plus, les NP sont de plus en plus utilisées dans les produits de soins, dans les cosmétiques et en médecine comme vecteur de médicaments pour le traitement du cancer ou encore pour l'imagerie biomédicale. Bien que des normes aient été élaborées afin de guider les travailleurs et les employeurs sur le choix des gants à privilégier pour la protection lors de la manipulation de contaminants chimiques ou de NP, seules quelques études ont livré des données quantitatives permettant la compréhension des mécanismes de diffusion des NP au travers des membranes de polymère.

La cellule de diffusion adaptée à l'imagerie nucléaire développée dans cette étude, et opérée en TEP, permet l'acquisition de données de diffusion à haute sensibilité et en continu. Ceci est essentiel pour extraire les paramètres cinétiques précis permettant une meilleure compréhension des processus de perméation des NP au travers des membranes de polymère. Des nanoparticules d'or ultra-petites (US-AuNP) ont été radiomarquées avec un émetteur de positons d'une demi-vie correspondant à l'échelle de temps des études de diffusion (le  $^{89}\text{Zr}$ ).

Les profils de perméation ont été acquis avec quatre types de membranes différentes, une en latex et trois en nitrile. Toutes ces membranes ont été extraites de gants commerciaux conformes aux tests de normalisation pour le domaine médical (tableau 6). Les expériences ont été réalisées à la fois dans l'éthanol 70 % et dans le PBS, deux liquides parmi les plus fréquemment utilisés lors des manipulations de produits biomédicaux. Pour chaque condition de mesure, deux courbes de perméation ont été extraites des images TEP, l'une révélant la diminution de la quantité des US-AuNP- $^{89}\text{Zr}$  quittant le CD, et l'autre reflétant l'augmentation de la quantité de US-AuNP- $^{89}\text{Zr}$  dans le CA. Dans cette étude, les mesures de perméation des NP ont été réalisées sur une très longue période (40 h) afin de bien déployer toute l'étendue de la portion linéaire de la courbe de perméation. En réalité, une durée beaucoup plus courte pourrait être suffisante pour confirmer que les membranes des gants sont sécuritaires si elles ne laissent passer qu'une petite fraction des NP présentes dans le CD pendant une période correspondant au maximum de temps qu'un travailleur est appelé à porter des gants de protection pour une tâche donnée (typiquement pendant une période maximale de 2 h).

Le système TEP permet la visualisation simultanée des profils de perméation des CD et CA. Cette capacité de détection du système TEP est significativement différente des autres méthodes analytiques généralement utilisées, telles que les méthodes d'HPLC, UV-vis, etc. Pour ces méthodes, les paramètres de perméation sont généralement extraits uniquement à partir de mesures réalisées dans le CA, à la suite de procédures d'échantillonnage. Cet échantillonnage a invariablement un impact sur les paramètres de perméation.

L'utilisation de cellules de diffusion pour mesurer la perméation des NP au travers des membranes représente généralement un défi de mesure. En effet, l'échantillonnage s'effectue généralement dans le CA dans lequel les concentrations sont souvent plus faibles que celle correspondant à la limite de détection des méthodes analytiques utilisées, nécessitant de prolonger les essais afin d'atteindre des concentrations plus élevées. Toutefois, l'impossibilité de détecter les contaminants dès les premiers instants de la perméation ne permet pas d'accéder à des données cinétiques complètes et précises. Par exemple, en 2011, Park *et coll.* ont étudié la perméation de NP d'argent à travers des gants en utilisant la spectroscopie d'émission atomique par plasma à couplage inductif (ICP-AES/OES), qui nécessite l'échantillonnage dans le CA à différents moments suivant le début des essais. Avec une LOD de  $0,4 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , cette méthode ne s'est pas avérée assez sensible pour la détection de ces NP d'argent (Park *et al.*, 2011).

En 2015, Vinches *et coll.* ont étudié la perméation des AuNP (47,9 nm de diamètre par TEM et 77,7 nm par DLS) au travers de gants en nitrile. Une solution physiologique a été utilisée comme milieu de perméation au sein de la cellule de diffusion qui fonctionnait en mode statique. Dans leur étude, ils ont utilisé l'ICP-MS pour la détection et pour la quantification d'Au dans le CA, après différentes durées de perméation. Même avec une LOD rapportée de  $0,048 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , la concentration en Au dans les échantillons n'était pas plus élevée que la LOD pour que soient révélées les données cinétiques de manière précise. Les AuNP n'ont pu être détectées qu'après plusieurs heures de perméation et uniquement en appliquant une forte déformation mécanique (volontaire) sur les membranes avant les essais. Dans une autre étude publiée en 2016, Vinches *et coll.* ont comparé la perméation de deux tailles d'AuNP (5 et 50 nm par TEM et 9,2 et 67,2 nm par DLS) au travers de membranes de nitrile. Une seule mesure a été réalisée à la fin d'un processus de perméation de 3 heures, ce qui a confirmé une perméation plus élevée des NP plus petites. La concentration en Au était trop proche de la LOD de la méthode d'analyse utilisée (ICP-MS) pour garantir la reproductibilité des mesures. Enfin en 2017, dans une étude similaire, Vinches *et coll.* ont mesuré la diminution de la concentration en AuNP de 5 nm dans le CD après plusieurs heures. Toutefois, aucun profil de perméation n'a été rapporté dans cette étude et les niveaux de variabilité signalés entre les répétitions de mesure par ICP-MS dans le CA étaient de l'ordre de 200 %.

La technologie développée au cours des travaux décrits dans ce rapport a permis de révéler que les US-AuNP de  $3,3 \pm 0,1$  nm de diamètre (voir figure 13) prennent plusieurs heures à pénétrer les membranes de latex ou de nitrile. Les mesures de perméation ont été effectuées après l'application d'une déformation mécanique. Les courbes de corrélation établies entre les valeurs de concentration molaire en Au et l'activité présente dans les solutions et détectée par TEP, a permis de révéler une LOD (sensibilité de détection) de l'ordre de  $0,002 \mu\text{M}$  d'Au (2 nM d'Au). Ces valeurs sont au moins un ordre de grandeur plus sensibles que celles des techniques d'analyse élémentaire comme l'ICP-MS (pour l'Au), et plusieurs ordres de grandeur plus sensibles que les techniques spectroscopiques telles la FTIR et HPLC-UV. Il faut rappeler que la mesure en TEP n'exige pas d'échantillonnage ni de digestion à l'acide des échantillons (comme pour les

techniques d'analyse élémentaire ICP-MS, MP-AES, ICP-OES, etc), et que l'acquisition des données se fait en continu, révélant ainsi une courbe beaucoup plus claire et précise que celles obtenues avec les techniques d'analyse élémentaire.

Par conséquent, sur la base de la revue de la littérature relative à la mesure de la perméation des NP au travers de membranes de polymère utilisées comme équipement de protection, les mesures de haute sensibilité en temps réel qu'offrent la cellule de diffusion opérée en TEP sont nettement avantageuses. L'approche et la technologie décrites dans ce rapport permettent la détection des temps de latence de manière très précise, ainsi que la mesure des taux d'afflux et le calcul des coefficients de diffusion.

Plusieurs organisations reconnaissent le manque de données sur l'efficacité des gants de protection contre la perméation des NP. La technologie proposée dans cette étude peut aider à répondre aux questions qui doivent être abordées, afin de formuler des recommandations sans ambiguïté quant à la sélection des modèles de gants les plus adéquats. L'application de ces recommandations protégerait mieux les travailleurs des risques de toxicité des NP, ainsi que des risques de toxicité de toute une batterie de contaminants hautement toxiques à faible dose, tels les pesticides et les agents de chimiothérapie. En effet, plusieurs des molécules hautement toxiques à faible dose représentent un enjeu de détection en cellule de diffusion, que la technologie décrite dans ce rapport permettrait de résoudre.

Le niveau de sensibilité de la TEP, couplé à la possibilité d'exploiter la modalité en mode continu, permet de dessiner les profils de perméation hautement résolus, nécessaires pour une analyse complète des paramètres cinétiques du passage des contaminants à travers les membranes. Ces paramètres de diffusion sont nécessaires pour comprendre le processus de perméation des AuNP à travers les membranes. De plus, le caractère visuel des données jette un nouvel éclairage pour l'analyse de l'homogénéité de la diffusion à travers les membranes. Ces informations peuvent être explorées dans toute une gamme de tests de diffusion impliquant une variété de NP et de molécules, non seulement pour les applications de délivrance de médicaments, mais aussi pour les évaluations toxicologiques.

Finalement, il faut indiquer que la taille du radioisotope et du chélateur (ex. ici le DFO) qui doit être utilisé pour le processus de radiomarquage peut constituer une limitation aux mesures de diffusion, dépendamment du contaminant à analyser. Dans un tel cas, le radiomarquage direct avec un isotope halogène à longue demi-vie tel que  $^{124}\text{I}$ , peut être préférentiellement exploré, afin de minimiser l'impact de la taille du chélateur sur la taille globale des molécules diffusantes. L'une des principales limites de la technologie est le nombre d'isotopes émetteurs de positons à demi-vie plus longue disponibles sur le marché (principalement  $^{89}\text{Zr}$  et  $^{124}\text{I}$ ). Cela limite déjà le nombre de procédures de radiomarquage différentes disponibles pour les NP. En effet, la chimie de surface des NP doit permettre soit la fixation du DFO (pour  $^{89}\text{Zr}$ , c'est-à-dire avec des groupements thiol ou amine), soit la réaction avec un halogène (dans le cas du radiomarquage avec  $^{124}\text{I}$ ).

Une stratégie de radiomarquage spécifique à chaque contaminant devrait donc être entreprise avant toute procédure de mesure de diffusion par TEP. Des équipements de tomographie par émission monophotonique (TEM ; en anglais : *Single Photon Emission Computed Tomography; SPECT*) pourraient aussi être utilisés, ce qui donnerait accès à un plus large éventail de radioisotopes.

## CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Le développement de tests de perméation de pointe permettant l'extraction des paramètres de diffusion cinétique des NP et des molécules toxiques diffusant à travers les membranes polymères est essentiel dans le domaine des vêtements de protection. Ainsi, l'objectif de ce travail était de développer une technologie de mesure à haute sensibilité qui permet l'extraction complète des paramètres caractérisant la perméation de très petites NP à travers les membranes synthétiques ou biologiques. La nouvelle cellule de diffusion, adaptée à l'imagerie nucléaire à haute sensibilité de détection, permet l'acquisition en continu de profils de perméation par tomographie par émission de positons (TEP). Des NP d'or ultra-petites (US-AuNP) ont été radiomarquées avec un émetteur de positons d'une demi-vie correspondant à l'échelle de temps des études de diffusion.

Les résultats de ce rapport sont la première démonstration de l'application de l'imagerie nucléaire à la mesure d'un processus de perméation des NP à travers des membranes polymères ; les tests de diffusion conventionnels rapportés jusqu'à présent et utilisant des cellules de diffusion de type Franz ayant une sensibilité de mesure et une résolution temporelle trop limitées pour permettre la détection du passage des NP à travers les gants.

Une sélection de gants parmi ceux étant les plus utilisés par les travailleurs biomédicaux et médicaux manipulant les NP, dont beaucoup respectaient plusieurs normes applicables aux gants médicaux, a été utilisée pour les tests de perméation. Les résultats des essais de perméation ont révélé que les US-AuNP pénètrent plus rapidement à travers les membranes de latex et de nitrile lorsque ces membranes sont en contact avec le PBS, par rapport à l'éthanol 70 %. La mesure en continu par TEP a permis de révéler un phénomène d'accumulation des NP dans les membranes. Ce phénomène retarde considérablement le temps de latence au début de la perméation des NP dans le compartiment accepteur (entre 2 et 12 heures). Ces résultats confirment qu'une fraction infime de NP passent à travers les membranes de nitrile et de latex pendant la période d'usage des gants de polymère utilisés comme EPI (moins de 2 h).

Les paramètres cinétiques, révélés par le processus de mesure, ont été corrélés à une étude d'analyse physico-chimique des polymères avant et après le processus de diffusion, qui a confirmé la dégradation plus élevée des membranes imbibées d'éthanol. En général, les membranes de nitrile retiennent plus de particules que celles de latex. Les membranes de nitrile non normalisées ont montré la perméation la plus élevée et la plus forte accumulation membranaire de NP. Ces données ont été confirmées par caractérisation spectroscopique (FTIR et XPS).

Ce projet a démontré qu'une cellule de diffusion fonctionnant dans un système de TEP permet la mesure efficace et à haute sensibilité du processus de diffusion des NP à travers les membranes polymères. La technologie développée peut être appliquée pour étudier l'influence des propriétés des NP (taille, agrégation, propriétés de surface) sur leur

passage à travers différents types de membranes. De plus, le protocole expérimental présenté dans ce rapport pourrait s'appliquer à plusieurs types de molécules et de NP qui ne sont souvent détectés qu'à sensibilité élevée. C'est le cas des molécules très toxiques (ex : agents antinéoplasiques pour la chimiothérapie, pesticides, etc.). Cependant, les molécules et NP doivent pouvoir être radiomarquées avec un radioisotope dont la demi-vie correspond aux exigences de la mesure de diffusion.

Cette étude montre clairement que des gants de latex et de nitrile utilisés couramment dans les procédures biomédicales et en médecine nucléaire protègent adéquatement les travailleurs contre les risques d'exposition cutanée aux NP ultra-petites. Les temps de latence avant passage des NP dans les membranes qui ont été révélés dans l'étude sont de plus de 3 heures. Ces temps de latence sont largement plus longs que le temps usuel pendant lequel les travailleurs portent une paire de gants. Conséquemment, le risque posé par le passage de NP ultra-petites à travers les gants de polymère est faible tant que leur intégrité physique est respectée (pas de déchirures, pas de porosité macroscopique engendrée par des déformations mécaniques, etc.).

La technologie développée dans le cadre des travaux de ce rapport pourrait être utilisée avantageusement par les fabricants de gants, afin de démontrer l'efficacité des gants de polymère comme barrière de protection contre les NP et les molécules toxiques. La cellule de diffusion étant un dispositif séparé de l'appareil de TEP, les compagnies pourraient charger à l'avance des membranes à tester dans des cellules, puis transférer ces dispositifs préparés et chargés dans un centre hospitalier ou une clinique disposant d'un système de TEP (disponible en général dans toute ville de plus de 100 000 habitants). La méthodologie de mesure développée dans ce projet peut facilement être adaptée à tout appareil de TEP clinique et n'est pas uniquement réservée à l'utilisation des appareils de TEP préclinique du petit animal.

Finalement, les tests développés dans ce rapport et utilisant la technologie TEP pourraient être demandés par les travailleurs œuvrant dans les domaines de la santé et de la recherche médicale afin de vérifier l'efficacité de certains gants de polymère comme barrière à différents types de contaminants (nanoparticules inorganiques, organiques, virus, petites molécules potentiellement très toxiques). Ces tests pourraient donc être à la base du développement d'une nouvelle norme avec, comme première étape, la réalisation d'une étude de perméation complète sur 2 cellules en parallèle : la cellule développée dans la présente étude, sous TEP, et la cellule utilisée dans la norme ASTM-F739, couplée à l'une des techniques analytiques proposées dans cette norme.

## BIBLIOGRAPHIE

- Abou, D. S., Ku, T. et Smith-Jones, P. M. (2011). In vivo biodistribution and accumulation of  $^{89}\text{Zr}$  in mice. *Nuclear Medicine and Biology*, 38(5), 675-681.  
<https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2010.12.011>
- Adisesh, A., Robinson, E., Nicholson, P. J., Sen, D. et Wilkinson, M. (2013). UK standards of care for occupational contact dermatitis and occupational contact urticaria. *British Journal of Dermatology*, 168(6), 1167-1175. <https://doi.org/10.1111/bjd.12256>
- Alrefaie, F. N., Wonke, B., Wickens, D. G., Aydinok, Y., Fielding, A. et Hoffbrand, A. V. (1994). Zinc concentration in patients with iron overload receiving oral iron chelator 1,2-dimethyl-3-hydroxypyrid-4-one or desferrioxamine. *Journal of Clinical Pathology*, 47(7), 657-660.  
<https://doi.org/10.1136/jcp.47.7.657>
- Anselmo, A. C. et Mitragotri, S. (2016). Nanoparticles in the clinic. *Bioengineering & Translational Medicine*, 1(1), 10-29. <https://doi.org/10.1002/btm2.10003>
- Anselmo, A. C. et Mitragotri, S. (2019). Nanoparticles in the clinic: An update. *Bioengineering & Translational Medicine*, 4(3), article e10143. <https://doi.org/10.1002/btm2.10143>
- ASTM International. (2013). *Standard test method for resistance of materials used in protective clothing to penetration by blood-borne pathogens using Phi-X174 bacteriophage penetration as a test system*. Norme ASTM F1671/F1671M-13.
- ASTM International. (2016). *Standard test method for rubber property: Effect of liquids*. Norme ASTM D471-16a.
- ASTM International. (2018). *Standard test method for measuring repellency, retention, and penetration of liquid pesticide formulation through protective clothing materials*. Norme ASTM F2130-11(2018).
- ASTM International. (2019a). *Standard practice for assessment of resistance of medical gloves to permeation by chemotherapy drugs*. Norme ASTM D6978-05(2019).
- ASTM International. (2019b). *Standard specification for poly(vinyl chloride) gloves for medical application*. Norme ASTM D5250-19.
- ASTM International. (2019c). *Standard test method for detection of holes in medical gloves*. Norme ASTM D5151-19.
- ASTM International. (2020a). *Standard practices for evaluating the resistance of plastics to chemical reagents*. Norme ASTM D543-20.
- ASTM International. (2020b). *Standard test method for permeation of liquids and gases through protective clothing materials under conditions of continuous contact*. Norme ASTM F739-20.

- ASTM International. (2020c). *Standard test method for permeation of liquids and gases through protective clothing materials under conditions of intermittent contact*. Norme ASTM F1383-20.
- Bailey, D. L., Townsend, D. W., Valk, P. E. et Maisey, M. N. (édit.). (2005). *Positron emission tomography: Basic sciences*. Springer-Verlag.
- Baroli, B., Ennas, M. G., Loffredo, F., Isola, M., Pinna, R. et Lopez-Quintela, M. A. (2007). Penetration of metallic nanoparticles in human full-thickness skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(7), 1701-1712. <https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700733>
- Benson, H. A. E. (2011). Skin structure, function, and permeation. Dans H. A. E. Benson et A. C. Watkinson (édit.), *Topical and transdermal drug delivery: Principles and practice* (p. 1-22). Wiley.
- Boman, A., Estlander, T., Wahlberg, J. E. et Maibach, H. I. (2004). *Protective gloves for occupational use* (2<sup>e</sup> éd.). CRC Press.
- Brenner, I. (2016). Inductively coupled plasma mass spectrometry applications. Dans D. Lindon, G. E. Tranter et D. W. Koppenaal (Édit.), *Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry* (3<sup>e</sup> éd.). Elsevier.
- Brouwer, D. H., Spaan, S., Roff, M., Sleenwenhoek, A., Tuinman, I., Goede, H., . . . Cherrie, J. W. (2016). Occupational dermal exposure to nanoparticles and nano-enabled products: Part 2, exploration of exposure processes and methods of assessment. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 219(6), 503-512. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.05.003>
- Brown, H. P. et Gibbs, C. F. (1955). Carboxylic elastomers. *Industrial and Engineering Chemistry*, 47(5), 1006-1012. <https://doi.org/10.1021/ie50545a037>
- Brust, M., Walker, M., Bethell, D., Schiffrin, D. J. et Whyman, R. (1994). Synthesis of thiol-derivatized gold nanoparticles in a 2-phase liquid-liquid system. *Journal of the Chemical Society: Chemical Communications*, (7), 801-802. <https://doi.org/10.1039/c39940000801>
- Canadian Standards Association. (2012). *Nanotechnologies : Exposure control program for engineered nanomaterials in occupational settings*. CSA.
- Chandra, R. (2012). Detection of high-energy radiation. Dans *Auteur* (édit.), *Nuclear medicine physics : The basics* (7<sup>e</sup> éd., p. 80-96 ). Lippincott Williams & Wilkins.
- Cherrie, J. W., Semple, S. et Brouwer, D. (2004). Gloves and dermal exposure to chemicals: Proposals for evaluating workplace effectiveness. *Annals of Occupational Hygiene*, 48(7), 607-615. <https://doi.org/10.1093/annhyg/meh060>
- Chao, K.P., Lee, P.H., et Wu, M.J.. (2003). Organic solvents permeation through protective nitrile gloves. *Journal of Hazardous Materials*, 99(2), 191-201. [https://doi.org/10.1016/s0304-3894\(03\)00042-6](https://doi.org/10.1016/s0304-3894(03)00042-6)

- Colombo, M., Melchiades, G. D., Figueiro, F., Battastini, A. M. O., Teixeira, H. F. et Koester, L. S. (2017). Validation of an HPLC-UV method for analysis of Kaempferol-loaded nanoemulsion and its application to in vitro and in vivo tests. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 145, 831-837. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.07.046>
- Conti, M. et Eriksson, L. (2016). Physics of pure and non-pure positron emitters for PET: A review and a discussion. *EJNMMI Physics*, 3(1), article 8. <https://doi.org/10.1186/s40658-016-0144-5>
- de Beer, A., Stuivenberg, J. H., Meindersma, B. et Blok, J. (1969). Positron gamma angular correlation measurements on decays of  $^{84}\text{Rb}$ ,  $^{74}\text{As}$ ,  $^{124}\text{I}$  and  $^{102}\text{Rh}$ . *Nuclear Physics A*, 138(2), 457-469. [https://doi.org/10.1016/0375-9474\(69\)90349-2](https://doi.org/10.1016/0375-9474(69)90349-2)
- Dinsmore, H. L. et Smith, D. C. (1948). Analysis of natural and synthetic rubber by infrared spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 20(1), 11-24. <https://doi.org/10.1021/ac60013a004>
- Dolez, P., Soulati, K., Gauvin, C., Lara, J. et Vu-Khanh, T. (2010). *Document d'information pour la sélection des gants de protection contre les risques mécaniques* (Guide technique n° RG-649). IRSST.
- Dolez, P., Vinches, L., Vu-Khanh, T., Wilkinson, K. et Plamondon, P. (2010). *Development of a test method for the evaluation of the efficiency of protective gloves against nanoparticles in conditions simulating occupational use* [Communication]. NanoSafe 2010, Grenoble, France.
- Dong, M. W. (2006). Regulatory aspects of HPLC analysis: HPLC system and method validation. Dans *Auteur* (édit.), *Modern HPLC for practicing scientists* (p. 221-241). Wiley.
- Dreaden, E. C., Alkilany, A. M., Huang, X. H., Murphy, C. J. et El-Sayed, M. A. (2012). The golden age: Gold nanoparticles for biomedicine. *Chemical Society Reviews*, 41(7), 2740-2779. <https://doi.org/10.1039/c1cs15237h>
- Ekberg, C., Kallvenius, G., Albinsson, Y. et Brown, P. L. (2004). Studies on the hydrolytic behavior of zirconium(IV). *Journal of Solution Chemistry*, 33(1), 47-79. <https://doi.org/10.1023/B:JOSL.0000026645.41309.d3>
- European Committee for Standardisation. (2015). *Determination of material resistance to permeation by chemicals: Permeation by liquid chemical under conditions of continuous contact*. Norme CEN EN 16523-1.
- European Committee for Standardisation. (2020). *Medical gloves for single use. Part 1: Requirements and testing for freedom from holes*. Norme CEN EN 455-1.
- Fabiilli, M. L., Piert, M. R., Koeppe, R. A., Sherman, P. S., Quesada, C. A. et Kripfgans, O. D. (2013). Assessment of the biodistribution of an [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-loaded perfluorocarbon double emulsion using dynamic micro-PET in rats. *Contrast Media & Molecular Imaging*, 8(4), 366-374. <https://doi.org/10.1002/cmml.1532>

- Filon, F. L., Bello, D., Cherrie, J. W., Sleenwenhoek, A., Spaan, S. et Brouwer, D. H. (2016). Occupational dermal exposure to nanoparticles and nano-enabled products: Part I, factors affecting skin absorption. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 219(6), 536-544. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.05.009>
- Filon, F. L., Crosera, M., Adami, G., Bovenzi, M., Rossi, F. et Maina, G. (2011). Human skin penetration of gold nanoparticles through intact and damaged skin. *Nanotoxicology*, 5(4), 493-501. <https://doi.org/10.3109/17435390.2010.551428>
- Filon, F. L., Mauro, M., Adami, G., Bovenzi, M. et Crosera, M. (2015). Nanoparticles skin absorption: New aspects for a safety profile evaluation. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 72(2), 310-322. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.05.005>
- Fourier, J. B. J. (2009). *The analytical theory of heat* (A. Freeman, trad.). Cambridge University Press. (Édition originale publiée en 1878)
- Franz, T. J. (1975). Percutaneous absorption: Relevance of in vitro data. *Journal of Investigative Dermatology*, 64(3), 190-195. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12533356>
- Golanski, L., Guiot, A., Rouillon, F., Pocachard, J. et Tardif, F. (2009). Experimental evaluation of personal protection devices against graphite nanoaerosols: Fibrous filter media, masks, protective clothing, and gloves. *Human & Experimental Toxicology*, 28(6-7), 353-359. <https://doi.org/10.1177/0960327109105157>
- Gouvernement du Canada. (2020). *Gants médicaux*. <https://www.tpsgc-pwgsc.gc.ca/ongc-cgsb/programme-program/certification/prog/gants-medical-fra.html>
- Granov, A., Stanzhevskiy, A. et Schwarz, T. (2013). *Positron emission tomography*. Springer.
- Griffiths, P. R. et de Haseth, J. A. (2006). *Fourier transform infrared spectrometry* (2<sup>e</sup> éd.). Wiley
- Hadgraft, J. et Guy, R. H. (2002). Feasibility assessment in topical and transdermal delivery: Mathematical models and in vitro studies. Dans J. Hadgraft (édit.), *Transdermal drug delivery* (2<sup>e</sup> éd., p. 1-23). CRC Press.
- Heskamp, S., Raave, R., Boerman, O., Rijpkema, M., Goncalves, V. et Denat, F. (2017). <sup>89</sup>Zr-immuno-positron emission tomography in oncology: State-of-the-art <sup>89</sup>Zr radiochemistry. *Bioconjugate Chemistry*, 28(9), 2211-2223. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.7b00325>
- Heylings, J. R. (2014). Diffusion cell design. Dans V. P. Shah, H. I. Maibach et J. Jenner (édit.), *Topical drug bioavailability, bioequivalence, and penetration* (2<sup>e</sup> éd., p. 69-80). Springer.
- Huff, T. B., Hansen, M. N., Zhao, Y., Cheng, J. X. et Wei, A. (2007). Controlling the cellular uptake of gold nanorods. *Langmuir*, 23(4), 1596-1599. <https://doi.org/10.1021/la062642r>
- Hussain, M. H., Abu Bakar, N. F., Mustapa, A. N., Low, K. F., Othman, N. H. et Adam, F. (2020). Synthesis of various size gold nanoparticles by chemical reduction method with different solvent polarity. *Nanoscale Research Letters*, 15, article 140. <https://doi.org/10.1186/s11671-020-03370-5>

- International Organization for Standardization. (2004). *Clothing for protection against contact with blood and body fluids: Determination of resistance of protective clothing materials to penetration by blood-borne pathogens: Test method using Phi-X 174 bacteriophage*. Norme ISO 16604:2004.
- International Organization for Standardization. (2006). *Single-use medical examination gloves. Part 2: Specification for gloves made from poly(vinyl chloride)*. Norme ISO 11193-2:2006.
- International Organization for Standardization. (2013). *Protective clothing: Protection against chemicals: Determination of resistance of protective clothing materials to permeation by liquids and gases*. Norme ISO 6529:2013.
- International Organization for Standardization. (2014). *Single-use sterile rubber surgical gloves: Specification*. Norme ISO 10282:2014.
- International Organization for Standardization. (2016a). *Protective gloves against dangerous chemicals and micro-organisms. Part 1: Terminology and performance requirements for chemical risks*. Norme ISO 374-1:2016.
- International Organization for Standardization. (2016b). *Protective gloves against dangerous chemicals and micro-organisms. Part 5: Terminology and performance requirements for micro-organisms risks*. Norme ISO 374-5:2016.
- International Organization for Standardization. (2019a). *Protective gloves against dangerous chemicals and micro-organisms. Part 2: Determination of resistance to penetration*. Norme ISO 374-2:2019.
- International Organization for Standardization. (2019b). *Protective gloves against dangerous chemicals and micro-organisms. Part 4: Determination of resistance to degradation by chemicals*. Norme ISO 374-4:2019.
- International Organization for Standardization. (2020). *Single-use medical examination gloves. Part 1: Specification for gloves made from rubber latex or rubber solution*. Norme ISO 11193-1:2020.
- Kaluza, S., Balderhaar, J. K., Orthen, B., Honnert, B., Jankowska, E., Pietrowski, P., . . . Zugasti, A. I. (2009). *Workplace exposure to nanoparticles*. EU-OSHA.
- Kazakevich, I. (2006). Role of HPLC in preformulation. Dans Y. Kazakevich et R. LoBrutto (édit.), *HPLC for pharmaceutical scientists* (p. 577-703). Wiley.
- Khabir, Z., Guller, A. E., Rozova, V. S., Liang, L. E., Lai, Y. J., Goldys, E. M., . . . Zvyagin, A. V. (2019). Tracing upconversion nanoparticle penetration in human skin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 184, article 110480. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110480>
- Kontoghiorghes, G. J. et Kontoghiorghes, C. N. (2020). Iron and chelation in biochemistry and medicine: New approaches to controlling iron metabolism and treating related diseases. *Cells*, 9(6), article 1456. <https://doi.org/10.3390/cells9061456>

- Koprda, V., Harangozo, M. et Kassai, Z. (2000). Transfer of radionuclides across skin barriers of animal skin models in vitro. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 246(3), 505-509. <https://doi.org/10.1023/A:1006720418374>
- Kosk-Bienko, J. (2009). *Workplace exposure to nanoparticles*. EU-OSHA.
- Kraeling, M. E. K., Topping, V. D., Keltner, Z. M., Belgrave, K. R., Bailey, K. D., Gao, X. G. et Yourick, J. J. (2018). In vitro percutaneous penetration of silver nanoparticles in pig and human skin. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 95, 314-322. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2018.04.006>
- Larese, F. F., D'Agostin, F., Crosera, M., Adami, G., Renzi, N., Bovenzi, M. et Maina, G. (2009). Human skin penetration of silver nanoparticles through intact and damaged skin. *Toxicology*, 255(1-2), 33-37. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2008.09.025>
- Laskowska, A., Zaborski, M., Boiteux, G., Gain, O., Marzec, A. et Maniukiewicz, W. (2014). Ionic elastomers based on carboxylated nitrile rubber (XNBR) and magnesium aluminum layered double hydroxide (hydrotalcite). *Express Polymer Letters*, 8(6), 374-386. <https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2014.42>
- Lauterwasser, C. (édit.). (2016). *Opportunities and risks of nanotechnologies*. OECD.
- Létourneau, M., Tremblay, M., Faucher, L., Rojas, D., Chevallier, P., Gossuin, Y., . . . Fortin, M. A. (2012). MnO-labeled cells: Positive contrast enhancement in MRI. *Journal of Physical Chemistry B*, 116(44), 13228-13238. <https://doi.org/10.1021/jp3032918>
- Lonroth, E. C., Wellendorf, H. et Ruyter, E. (2003). Permeability of different types of medical protective gloves to acrylic monomers. *European Journal of Oral Sciences*, 111(5), 440-446. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0722.2003.00064.x>
- Lu, F. J. et Hsu, S. L. (1987). A vibrational spectroscopic analysis of the structure of natural rubber. *Rubber Chemistry and Technology*, 60(4), 647-658. <https://doi.org/10.5254/1.3536148>
- Lunn, G. (2005). *HPLC methods for recently approved pharmaceuticals*. Wiley.
- Ma, M. T., Meszaros, L. K., Paterson, B. M., Berry, D. J., Cooper, M. S., Ma, Y. M., . . . Blower, P. J. (2015). Tripodal tris(hydroxypyridinone) ligands for immunoconjugate PET imaging with  $^{89}\text{Zr}^{4+}$ : Comparison with desferrioxamine-B. *Dalton Transactions*, 44(11), 4884-4900. <https://doi.org/10.1039/c4dt02978j>
- Mahmoud, N. N., Alkilany, A. M., Dietrich, D., Karst, U., Al-Bakri, A. G. et Khalil, E. A. (2017). Preferential accumulation of gold nanorods into human skin hair follicles: Effect of nanoparticle surface chemistry. *Journal of Colloid and Interface Science*, 503, 95-102. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.05.011>
- Mahmoud, N. N., Harfouche, M., Alkilany, A. M., Al-Bakri, A. G., El-Qirem, R. A., Shraim, S. A. et Khalil, E. A. (2018). Synchrotron-based X-ray fluorescence study of gold nanorods and skin elements distribution into excised human skin layers. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 165, 118-126. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.02.021>

- Mellstrom, G. A. et Boman, A. (2004). Gloves: Types, materials, and manufacturing. Dans A. Boman, T. Estlander, J. E. Wahlberg et H. I. Maibach (édit.), *Protective gloves for occupational use* (2<sup>e</sup> éd., p. 15-28). CRC Press.
- Mellstrom, G. A., Carlsson, B. et Boman, A. (2004). Testing of protective effect against liquid chemicals. Dans A. Boman, T. Estlander, J. E. Wahlberg et H. I. Maibach (édit.), *Protective gloves for occupational use* (2<sup>e</sup> éd., p. 71-88). CRC Press.
- Michaels, A. S., Chandrasekaran, S. K. et Shaw, J. E. (1975). Drug permeation through human skin: Theory and invitro experimental measurement. *AIChE Journal*, 21(5), 985-996. <https://doi.org/10.1002/aic.690210522>
- Mills, P. C., Magnusson, B. M. et Cross, S. E. (2003). Effect of solute lipophilicity on penetration through canine skin. *Australian Veterinary Journal*, 81(12), 752-755. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2003.tb14608.x>
- Mota, A. H., Rijo, P., Molpeceres, J. et Reis, C. P. (2017). Broad overview of engineering of functional nanosystems for skin delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 532(2), 710-728. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.07.078>
- National Institutes of Health. (2014). *Nanotechnology safety and health program*. NIH.
- Nelms, S. M. (2005). *Inductively coupled plasma mass spectrometry handbook*. Wiley
- Ostiguy, C., Debia, M., Roberge, B. et Dufresne, A. (2014). *Nanomatériaux : guide de bonnes pratiques favorisant la gestion des risques en milieu de travail* (Rapport n° R-840, 2<sup>e</sup> éd.). IRSST.
- Ostiguy, C., Roberge, B., Menard, L. et Endo, C.-A. (2008). *Guide de bonnes pratiques favorisant la gestion des risques reliés aux nanoparticules de synthèse* (Rapport n° R-586). IRSST.
- Palmer, B. C. et DeLouise, L. A. (2016). Nanoparticle-enabled transdermal drug delivery systems for enhanced dose control and tissue targeting. *Molecules*, 21(12), article 1719. <https://doi.org/10.3390/molecules21121719>
- Pandya, D. N., Bhatt, N., Yuan, H., Day, C. S., Ehrmann, B. M., Wright, M., . . . Wadas, T. J. (2017). Zirconium tetraazamacrocyclic complexes display extraordinary stability and provide a new strategy for zirconium-89-based radiopharmaceutical development. *Chemical Science*, 8(3), 2309-2314. <https://doi.org/10.1039/c6sc04128k>
- Park, J., Kwak, B. K., Kim, Y. et Yi, J. (2011). Efficiency of protective dermal equipment against silver nanoparticles with water aerosol. *Journal of Nanoparticle Research*, 13(7), 3043-3049. <https://doi.org/10.1007/s11051-010-0201-2>
- Pendlington, R. U. (2008). In vitro percutaneous absorption measurements. Dans R. P. Chilcott et S. Price (édit.), *Principles and practice of skin toxicology* (p. 129-148). Wiley
- Pirrie, D. et Pirrie, A. R. (2017). Composition and abundance of particles present on “powder-free” examination gloves. *Forensic Science International*, 279, 148-156. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2017.08.019>

- Pollack, G. L. (1977). Diffusion of xenon through epithelia and through water boundary layers. *Bulletin of the American Physical Society*, 22(3), 277-277.
- Price, E. W. et Orvig, C. (2014). Matching chelators to radiometals for radiopharmaceuticals. *Chemical Society Reviews*, 43(1), 260-290. <https://doi.org/10.1039/c3cs60304k>
- Pugh, J. W. et Chilcott, R. P. (2008). Principles of diffusion and thermodynamics. Dans R. P. Chilcott et S. Price (édit.), *Principles and practice of skin toxicology* (p. 96-107). Wiley.
- Règlement sur les instruments médicaux*, DORS/98-282 (Gaz. Can. II).
- Rolere, S., Liengprayoon, S., Vaysse, L., Sainte-Beuve, J. et Bonfils, F. (2015). Investigating natural rubber composition with Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy: A rapid and non-destructive method to determine both protein and lipid contents simultaneously. *Polymer Testing*, 43, 83-93. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2015.02.011>
- Saha, G. B. (2016). *Basics of PET imaging: Physics, chemistry and regulations*. Springer.
- Schneider, M., Stracke, F., Hansen, S. et Schaefer, U. F. (2009). Nanoparticles and their interactions with the dermal barrier. *Dermato-Endocrinology*, 1(4), 197-206. <https://doi.org/10.4161/derm.1.4.9501>
- Seto, J. E., Polat, B. E., Lopez, R. F. V., Blankschtein, D. et Langer, R. (2010). Effects of ultrasound and sodium lauryl sulfate on the transdermal delivery of hydrophilic permeants: Comparative in vitro studies with full-thickness and split-thickness pig and human skin. *Journal of Controlled Release*, 145(1), 26-32. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.03.013>
- Shameli, K., Bin Ahmad, M., Jazayeri, S. D., Sedaghat, S., Shabanzadeh, P., Jahangirian, H., . . . Abdollahi, Y. (2012). Synthesis and characterization of polyethylene glycol mediated silver nanoparticles by the green method. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(6), 6639-6650. <https://doi.org/10.3390/ijms13066639>
- Sharma, A., Goyal, A. K. et Rath, G. (2018). Recent advances in metal nanoparticles in cancer therapy. *Journal of Drug Targeting*, 26(8), 617-632. <https://doi.org/10.1080/1061186x.2017.1400553>
- Shim, J., Kang, H. S., Park, W. S., Han, S. H., Kim, J. et Chang, I. S. (2004). Transdermal delivery of mixnoxidil with block copolymer nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, 97(3), 477-484. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2004.03.028>
- Smith, B. C. (2018). The carbonyl group, part V: Carboxylates: Coming clean. *Spectroscopy*, 33(5), 20-23.
- Sonavane, G., Tomoda, K., Sano, A., Ohshima, H., Terada, H. et Makino, K. (2008). In vitro permeation of gold nanoparticles through rat skin and rat intestine: Effect of particle size. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 65(1), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2008.02.013>

- Stevens, M. J. et Plimpton, S. J. (1998). The effect of added salt on polyelectrolyte structure. *European Physical Journal B*, 2(3), 341-345. <https://doi.org/10.1007/s100510050257>
- Thomsen, V., Schatzlein, D. et Mercurio, D. (2003). Limits of detection in spectroscopy. *Spectroscopy*, 18(12), 112-114.
- Trbojevich, R. A., Fernandez, A., Watanabe, F., Mustafa, T. et Bryant, M. S. (2016). Comparative study of silver nanoparticle permeation using Side-Bi-Side and Franz diffusion cells. *Journal of Nanoparticle Research*, 18(3), article 55. <https://doi.org/10.1007/s11051-016-3363-8>
- Ussing, H. H. et Zerahn, K. (1951). Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin. *Acta Physiologica Scandinavica*, 23(2-3), 110-127. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1951.tb00800.x>
- Vanhaecke, F. (2012). Single-collector inductively coupled plasma mass spectrometry. Dans F. Vanhaecke et P. Degryse(édit.), *Isotopic analysis : Fundamentals and applications using ICP-MS* (p. 33-75). Wiley.
- van Loon, J., Even, A. J. G., Aerts, H., Ollers, M., Hoebers, F., van Elmpt, W., . . . Lambin, P. (2017). PET imaging of zirconium-89 labelled cetuximab: A phase I trial in patients with head and neck and lung cancer. *Radiotherapy and Oncology*, 122(2), 267-273. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2016.11.020>
- Venus, M., Waterman, J. et McNab, I. (2011). Basic physiology of the skin. *Surgery*, 29(10), 471-474.
- Vinches, L., Boulebrane, Y., Perron, G., Hallé, S., Testori, N., Dolez, P. et Wilkinson, K. J. (2012). Swelling of protective gloves in commercial TiO<sub>2</sub> nanoparticles colloidal solutions. *International Journal of Theoretical and Applied Nanotechnology*, 1(1), 45-51. <https://doi.org/10.11159/ijtan.2012.007>
- Vinches, L., Dolez, P., Wilkinson, K. J. et Hallé, S. (2013). Experimental evaluation of the resistance of nitrile rubber protective gloves against TiO<sub>2</sub> nanoparticles in water under conditions simulating occupational use. *Journal of Physics: Conference Series*, 429, article 012056.
- Vinches, L., Hallé, S., Peyrot, C. et Wilkinson, K. J. (2014). Which gloves are efficient to protect against titanium dioxide nanoparticles in work conditions? *International Journal of Theoretical and Applied Nanotechnology*, 2, 24-29. <https://doi.org/10.11159/ijtan.2014.004>
- Vinches, L., Peyrot, C., Lemarchand, L., Boutrigue, N., Zemzem, M., Wilkinson, K. J., . . . Tufenkji, N. (2015). Towards understanding the mechanisms and the kinetics of nanoparticle penetration through protective gloves. *Journal of Physics: Conference Series*, 617, article 012030.
- Vinches, L., Zemzem, M., Hallé, S., Peyrot, C., Wilkinson, A. et Tufenkji, N. (2016). Effectiveness of protective gloves against engineered nanoparticles: Difficulties in evaluation. *International Journal of Theoretical and Applied Nanotechnology*, 6, 9-16.

- Vinches, L., Zemzem, M., Hallé, S., Peyrot, C., Wilkinson, K. J. et Tufenkji, N. (2017). An improved experimental methodology to evaluate the effectiveness of protective gloves against nanoparticles in suspension. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 14(7), D95-D101. <https://doi.org/10.1080/15459624.2017.1285494>
- Wilczewska, A. Z., Niemirowicz, K., Markiewicz, K. H. et Car, H. (2012). Nanoparticles as drug delivery systems. *Pharmacological Reports*, 64(5), 1020-1037. [https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(12\)70901-5](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(12)70901-5)
- Wiszniewska, M. et Walusiak-Skorupa, J. (2015). Recent trends in occupational contact dermatitis. *Current Allergy and Asthma Reports*, 15(7). <https://doi.org/10.1007/s11882-015-0543-z>
- Yates, D. W. (2020). *Safety professional's reference and study guide* (3<sup>e</sup> éd.). CRC Press.