

JASP, Montréal, 25 Novembre 2013


LES ÉTUDES DE BIOSURVEILLANCE
UN DÉFI MODERNE POUR LES LABORATOIRES ANALYTIQUES





Centre de toxicologie du Québec (CTQ)
INSPQ, Québec, Canada

Pierre Dumas
Chimiste expert en recherche et innovation analytique

Alain LeBlanc
Chef de secteur projets spéciaux,
services de soutien et assurance qualité externe

OBJECTIF

Conscientiser les intervenants en santé publique incluant les scientifiques, les chercheurs et les épidémiologistes aux problèmes quotidiens que les laboratoires rencontrent pendant leur mandat analytique

et ce plus particulièrement face aux nouveaux polluants environnementaux



Oc1ccc(Cl)cc1Oc2ccc(Cl)c(Cl)c2
Triclosan

Mandats analytique différents

Exigences différentes

Besoin	Diagnostic d'intoxication aiguë Dépistage	Surveillance de travailleurs exposés	Études épidémiologiques	Études de Biosurveillances
Sensibilité		++	+++	+++
Précision	+	++	++++	+++
Exactitude	+	+	++	+++
Temps réponse	+++	++	+	+
Comparable	+	+	++	+++

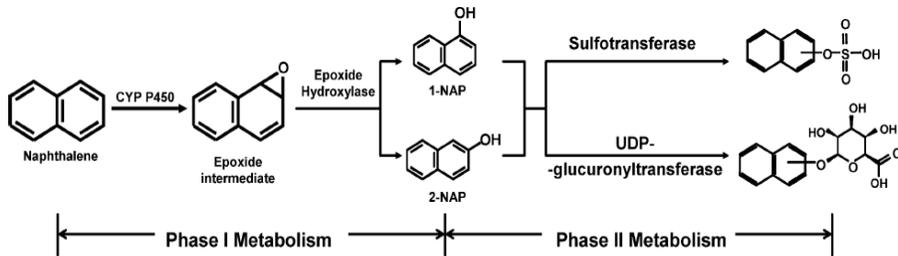
DÉFIS POUR LES LABORATOIRES

- Développer des méthodes d'analyse fiables, robustes et précises
- S'assurer de valider adéquatement et suffisamment les protocoles analytiques
- S'assurer de la comparabilité des résultats d'analyses
- Maintenir la qualité des résultats produits et la qualification du personnel qui les produisent



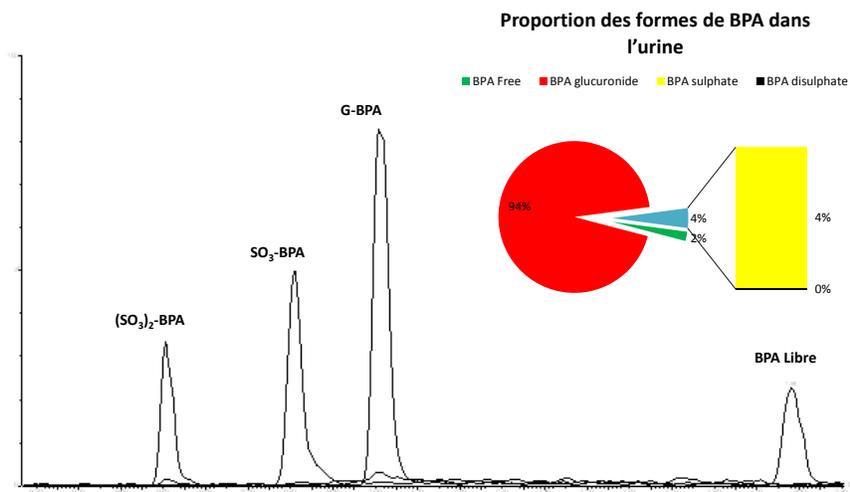
Défis des polluants organiques

Formes libres et conjuguées de métabolites de naphthalène



Défis des polluants organiques

Métabolites de BPA par mesure directe



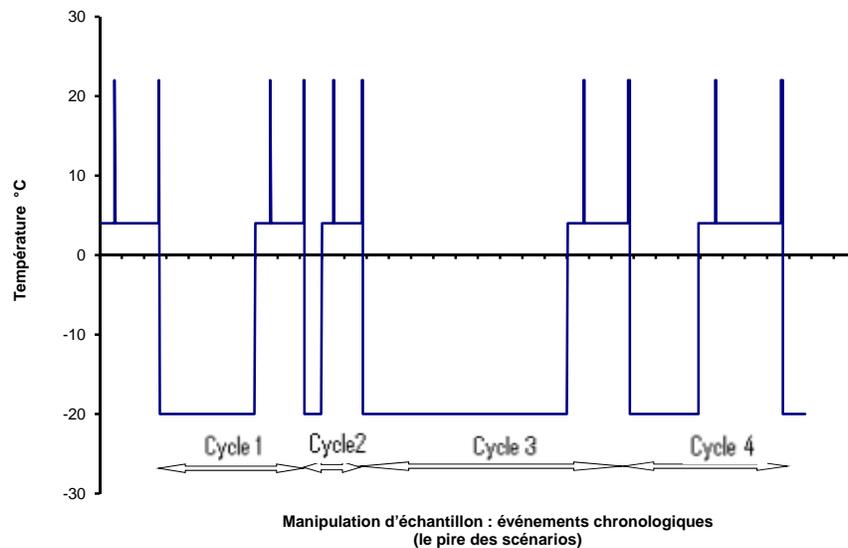
Problèmes des laboratoires de biosurveillance humaine

Intégrité des échantillons

Prélèvement d'échantillons, intégrité et conservation

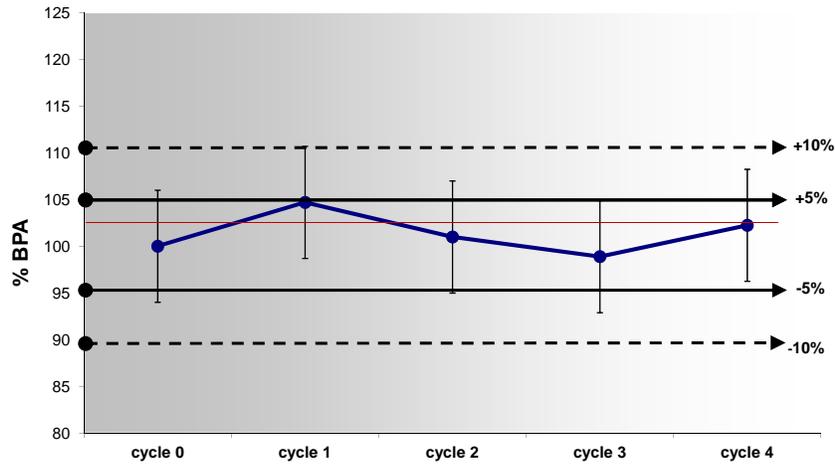
- Temps du prélèvement (ponctuel/24 h; variabilité quotidienne)
- Manipulation (gel/dégel)
- Stabilité (+ > 5 ans)
- Homogénéité : espèces libres/conjuguées
- Contamination (procédure de prélèvement, récipient, ...)
- Récipient d'échantillonnage (adsorption sur des matières plastiques) / Tubes
- Sommes-nous sûrs de mesurer le bon biomarqueur? Dans la bonne matrice?
- Condition d'expédition (dans la nuit, surgelé)

Exemple de tableau de suivi des températures
« Gel/dégel »

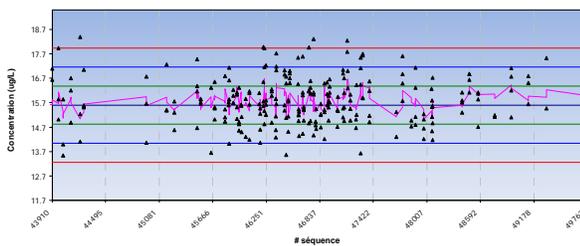


Défis des polluants organiques Problèmes de stabilité

Gel/Dégel – Stabilité du BPA total dans l'urine (14 échantillons)

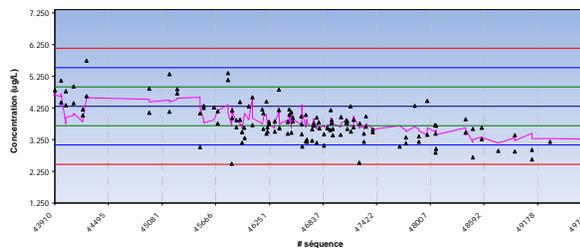


Urine 2,4,6- Trichlorophénol Stabilité à long terme (8 mois) dans du verre à -80 °C



QC interne d'urine non enrichie. Forme conjuguée endogène de trichlorophénol

Bonne stabilité



QC externe fait d'urine enrichie utilisant du trichlorophénol libre

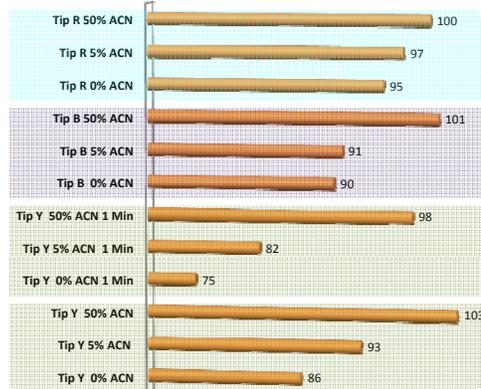
Faible stabilité

Manipulations délicates de contaminants hydrophobes Exemple du Triclosan



- Le Triclosan libre peut être adsorbé rapidement sur des embouts de plastique selon le type de matériel et le % d'acétonitrile dans l'échantillon enrichi.
- Le temps de séjour dans les embouts des pipettes peut augmenter le degré d'adsorption.

% de Récupération dans l'urine



Problèmes des laboratoires de biosurveillance humaine Étalonnage

Étalon de de calibration d'analyse

- Disponibilité d'analytes conjugués
- Précision (certificats, sources multiples)
 - Impact sur les données de biosurveillance (d'un cycle à l'autre)
 - Disponibilité de standards internes appropriés
des analogues ^{13}C étiquetés et non-étiquetés ne sont pas habituellement disponibles en même temps
 - Synthèses personnalisées (TRC, CANSYN, CHIRON, CIL, etc.)
Coût élevé, délai de livraison, uniformité des lots, pureté (Spectres UV, NMR, IR et MS)



Comparaison des étalons « Mono esters phtaliques »

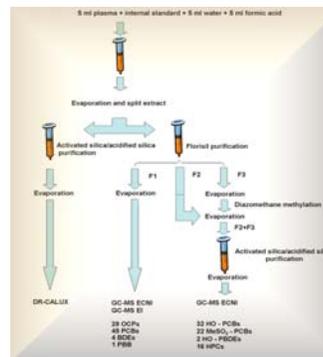
	Fournisseur	MMP	MEP	MIBP	MnBP	MCHP	MBzP	MEHP	MEHHP	MEOHP	MECPP	MOP	MCPP	MNP
Solutions certifiées	CIL-2006	-25%	-2%	-	-47%	-1%	-63%	-29%	-11%	-7%	-	12%	-22%	-39%
	CIL-2009	-9%	-11%	-5%	-13%	-12%	-76%	-14%	-21%	4%	3%	2%	-70%	-16%
	CIL-2010	-3%	-9%	0%	-11%	-7%	3%	-11%	-19%	-9%	-2%	3%	-78%	-10%
	Chiron	-	-	-3%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Accustandard	-26%	-31%	-	-19%	-	-4%	-27%	-	-	-	-	-	-
Étalons purs	Accustandard	8%	-7%	-	-5%	-	-2%	-27%	-	-	-	-	-	-
	Aldrich	9%	-	-	-6%	-	-5%	-	-	-	-	-	-	-
	Chiron	-	-21%	-	0%	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Dr Ehrenstorfer	13%	-	-	-2%	-	-	-29%	-	-	-	-	-	-
	CanSyn	9%	-5%	4%	-1%	-6%	-1%	-8%	-6%	-4%	-1%	10%	-7%	-3%
	CIL	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
	TRC	7%	-3%	4%	-6%	-10%	-2%	-11%	9%	9%	-70%	12%	-2%	-6%

Langlois E., LeBlanc A., Simard Y., Thellen C. [Accuracy investigation of phthalate metabolite standards](#)
Journal of Analytical Toxicology, 2012 ; 36 :270-279

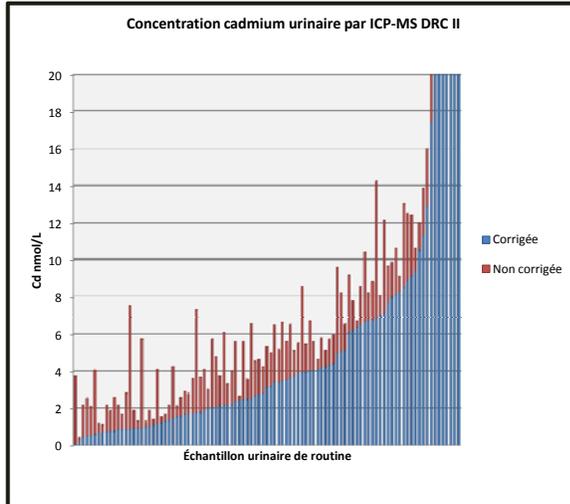
Problèmes des laboratoires de biosurveillance humaine Méthodologie

Méthodes analytiques

- Protocoles classiques versus adaptés au besoins de la biosurveillance
- Validation du protocole analytique jusqu'où doit on aller?
- Sensibilité : quel type de LOD apportée
- Contrôle de la qualité
 - Comment ?
 - Avec quel matériel?
 - Quels Critères d'acceptabilité s?
- Contamination au laboratoire (ex: BPA, Triclosan, Parabènes, BDEs, ...)
- Comparabilité entre les autres méthodes et études



Interprétation clinique vs utilisation en Biosurveillance Impacte de l'interférence n'est pas la même

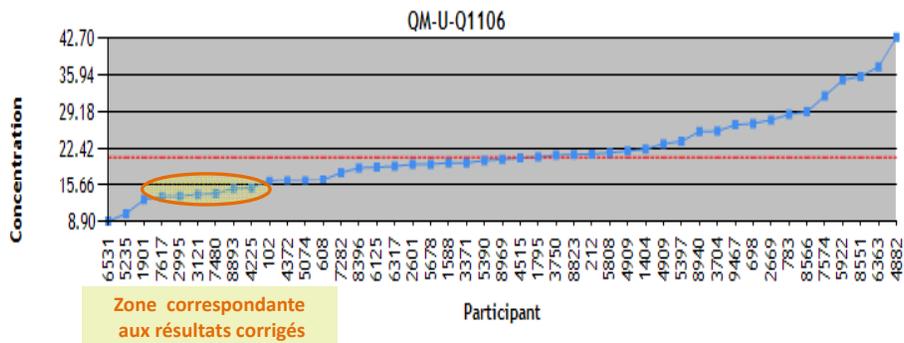


- Normale canadienne 3,0 nmol/L
- 95 percentile 32 nmol/L
- MADO Québécoise 65 nmol/L
- Seuil toxique 180 nmol/L

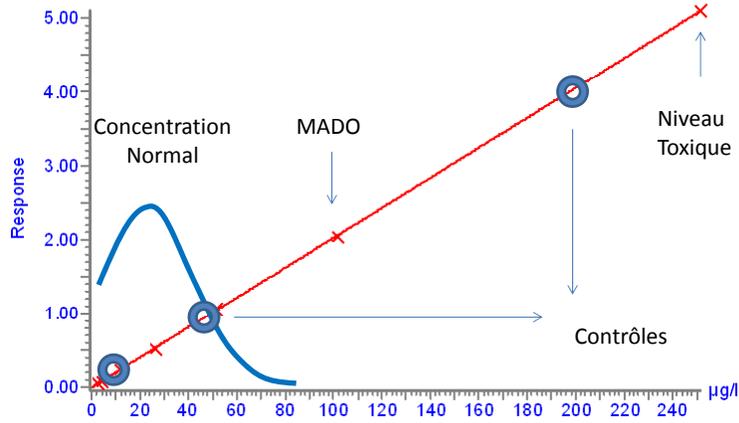
Programmes d'assurance qualité externes Problèmes des comparaisons interlaboratoires



Cadmium dans l'urine (nmol/L)
QMEQAS 2011-2



Design méthodologique Domaine d'application

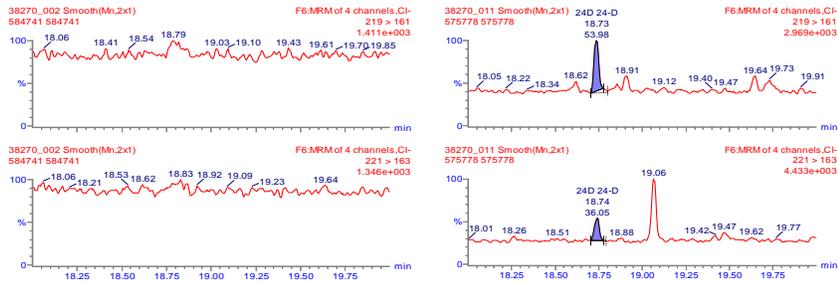


Validation des Protocoles analytiques



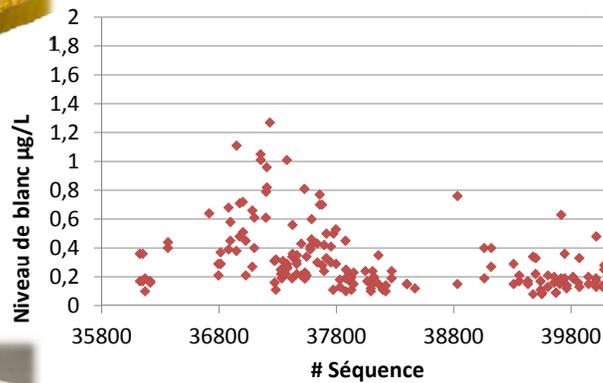
Sensibilité Récupération..... Effet Matrice.... Linéarité... Effet
mémoire....Robustesse ...Exactitude....Répétabilité...Reproductibilité...Stabilité...

Limite de détection

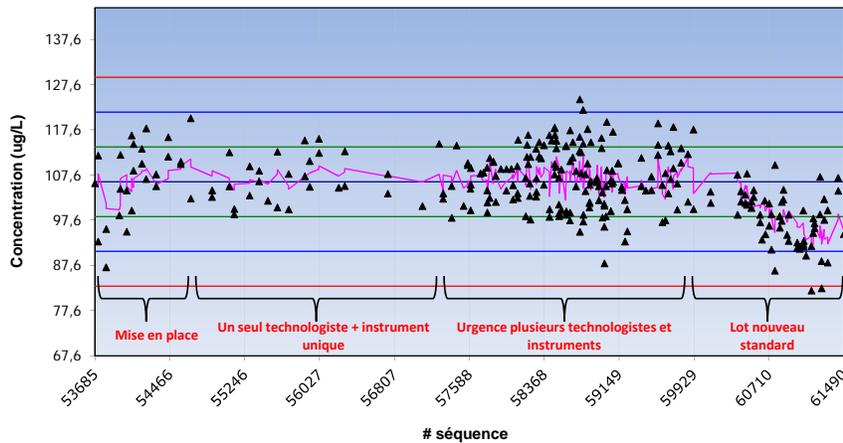


- 3 différents niveaux de confiance
 - Limite de détection instrumentale (3*bruit fond).....0.02 µg/L
 - Limite de détection par répétabilité (3*ET de 10 répliquat)...0.21 µg/L
 - Limite de détection par reproductibilité (3*ET de 10).....0.31 µg/L

Niveau de blanc BPA Contamination du laboratoire



Historique de performance



Problèmes des laboratoires de biosurveillance humaine Comparabilité + Exactitude

Matériaux de référence

- Disponibilité (certifiés?)
- Adéquation (même matrice?)

Programmes d'assurance qualité externes

- Comment comparer des résultats d'études?
 - Collaboration entre laboratoires de référence ou centres de recherche
- Aider à réduire la vulnérabilité



Disponibilité d'achat de PAQE et MRC

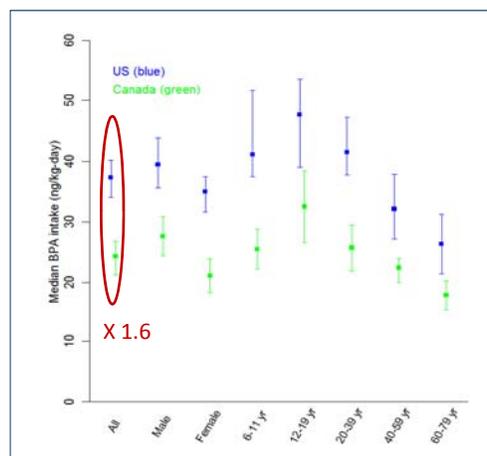
PAQE

Blood lead (17)	AAFP	CAP	DigitalPt	G-EQUAS	LAMP	NEQAS	NYSDH	OELM	PCI	Penn	QMEQAS	RCPA	SEKK	SKZL	TEQAS	WIV-ISP	WSLH
Urine BPA (1)	G-EQUAS																
Urine Triclosan (0)																	
Urine Triclocarban (0)																	

MRC

Blood lead (6)	IAEA	IRMM	NIST	RECIPE	SERONORM	UTAK
Urine BPA (1)	RECIPE [NIST]					
Urine Triclosan (0)	[NIST]					
Urine Triclocarban (0)						

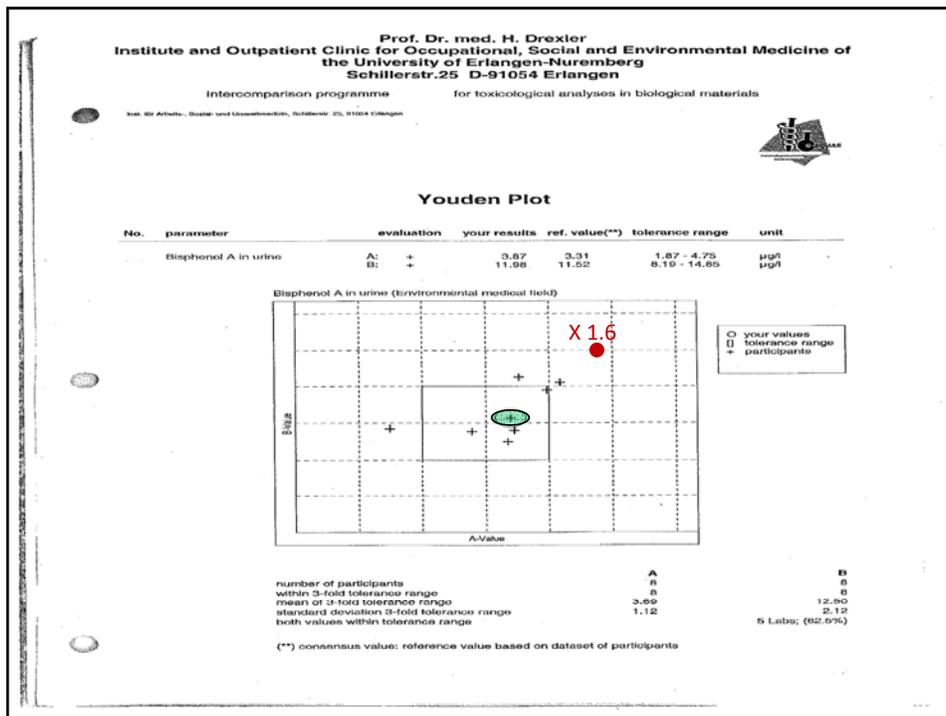
É.-U. / CANADA COMPARAISON DE DOSES DE BPA



Comparing United States and Canadian population exposures from National Biomonitoring Surveys: Bisphenol A intake as a case study
 Judy S. Lokind, Johanne Levesque, Pierre Dumas, Shirley Bryan, Janine Clarke and Daniel Q. Naiman
 Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology (2012) 22, 219-226

BPA dans l'urine QC

	QC faible	QC haut
Valeur cible	2.90 ±0.23	10.17 ±0.58
CTQ 1	2.98	10.6
CTQ 2	2.82	10.2



Conclusion

- Les laboratoires impliqués dans la biosurveillance font face à des défis à tous les niveaux de fonctionnement
- Les protocoles de validation devraient être uniformisés parmi les laboratoires en biosurveillance
- La validation des méthodes doit être portée à un niveau supérieur (stabilité, effet de matrice, comparabilité de standards, ...)
- L'importance des Programmes d'assurance qualité externes et des matériaux de référence est évidente sinon on doit établir d'autres stratégies
- Un laboratoire de référence doit avoir les capacités et l'expertise pour s'attaquer à ces problèmes récurrents (pas forcément compatible avec les structures de chaque laboratoire)

« **MERCI DE VOTRE ATTENTION** »

DES QUESTIONS?