

Méthode analytique

Dosage de l'arsenic urinaire inorganique et ses métabolites

Responsable technique de la méthode

Sébastien Gagné, M. Sc., chimiste

Personnes ayant contribué à la présente version de cette méthode

Éric Langlois, technicien de laboratoire

MÉTHODES DE
LABORATOIRES

MA-43



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. Les méthodes d'analyses ou d'étalonnage sont celles mises au point ou retenues par l'IRSST pour l'exécution de ses différents mandats. Elles peuvent requérir l'utilisation de matériels, d'opérations ou d'équipements dangereux. Ces méthodes n'ont pas pour but de mentionner tous les problèmes de sécurité associés avec leur utilisation. C'est la responsabilité de l'utilisateur d'établir les pratiques de santé et de sécurité appropriées. L'utilisation des données incluses dans ces méthodes se fera aux seuls risques de l'utilisateur : l'IRSST se dégage de toute responsabilité relative aux erreurs ou aux dommages qui découleraient de telle utilisation et de telle application. Les hyperliens qui apparaissent dans ce document ont été validés au moment de la publication.

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

Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2021

ISBN : 978-2-89797-157-1

ISSN : 0837-5577

Lorsque imprimé, ce document est non contrôlé.
SVP vous référer au document disponible sur support informatique

No. Révision : 1 - Date de diffusion: 2021-02-15

Lorsque imprimé, ce document est non contrôlé.
SVP vous référer au document disponible sur support informatique

No. Révision : 1 - Date de diffusion: 2021-02-15

BIOMARQUEUR	VALEUR RECOMMANDÉE (IBE ¹)
Arsenic urinaire inorganique et ses métabolites	465 nmol/L

¹ IBE (Indice Biologique d'Exposition)

APPLICABILITÉ

Arsenic urinaire inorganique et ses métabolites (somme d'arsénite (As +3), arsenate (As +5), acide diméthylarsénique (DMA) et acide monométhylarsénique (MMA))

Domaine : 13 à 801 nmol/L (1 à 60 ppb)

Coefficient de détermination (r^2) $\geq 0,990$

LIMITATIONS ET INTERFÉRENCES

On distingue trois types d'interférences : les effets de matrice, les interférences spectrales et non spectrales. Les effets de matrice peuvent trouver leur origine lors de l'ionisation des ions qui vont affecter la réponse obtenue des composés d'intérêts (suppression ou surexpression du signal). Ils peuvent aussi subvenir lors de la chromatographie et affecter la qualité de celle-ci par une déviation des temps de rétention attendus pour les composés donnés ainsi que l'asymétrie des pics chromatographiques. Les interférences non spectrales, contribuant aussi aux effets de matrice, peuvent trouver leur origine dans trois processus ou lieux différents: dans le processus de nébulisation, dans le plasma ou dans la zone de l'interface et du déflecteur. Ce type d'interférences inclut également l'obturation du nébuliseur, du tube injecteur de la torche et des cônes (échantillonneur et écrêteur) en raison des concentrations élevées en sel dissous.

Les interférences spectrales les plus communes sont les **interférences polyatomiques** (ou moléculaires) produites par la combinaison de deux ou plus ions atomiques qui ont le même rapport masse/charge nominal que l'isotope d'intérêt. Ces ions sont généralement formés dans le plasma ou le système d'interface à partir des gaz vecteurs ou des constituants de l'échantillon. Les **interférences isobariques** quant à elles sont provoquées par des isotopes de différents éléments qui forment des ions à charge unique ou double ayant le même rapport masse/charge nominal.

Plusieurs stratégies permettent d'éliminer et/ou de diminuer ces interférences. Les stratégies principales utilisées dans cette méthode d'analyse pour diminuer ou éliminer les interférences sont les suivantes :

- ▶ L'utilisation d'une cellule à collision (mode KED) et/ou à réaction (mode DRC avec oxygène);
- ▶ Appariement de la composition (matrice) des solutions d'étalonnage et celle des solutions d'échantillon;
- ▶ L'optimisation des conditions d'analyse, afin de maximiser le rapport entre le signal analytique et le signal d'interférence (puissance du plasma, débit du gaz vecteur d'échantillonnage, débit de prélèvement de l'échantillon, distance entre la torche et le sommet du cône échantillonneur, temps de rinçage entre deux solutions, etc.).
- ▶ Dilution de l'échantillon pour diminuer les effets de matrice, lorsque trop importants.

Afin de cibler les interférences le plus efficacement possible, il importe de considérer tout élément pertinent lors du prélèvement avant le traitement de l'échantillon et l'interprétation des résultats. Il peut s'avérer qu'une interférence soit impossible à résoudre, causant une sous-estimation ou une surestimation du résultat. Une note au rapport est alors émise à cet effet.

PRÉLÈVEMENT

1) Contenant et quantité

Contenant	Bouteille en polyéthylène Nalgène de 125 mL
Quantité	20 mL d'urine minimum, mais de 50 mL à 100 mL préférablement

2) Conditions de prélèvement recommandées

Moment : Fin de la semaine de travail

3) Durée de conservation testée et validée

Stable 1 mois à 4 °C (Référence : site web CTQ)

4) Entreposage

Au réfrigérateur (≈ 4 °C)

Durée maximale : 30 jours

5) Détails

Prévenir les risques de contamination externe de l'échantillon lors du prélèvement.

Le personnel médical doit prendre les dispositions nécessaires afin qu'il n'y ait pas contamination du liquide biologique lors du prélèvement. Les travailleurs doivent être informés au besoin des précautions à prendre lors de la cueillette d'échantillons urinaires, et ce, en fonction des commodités disponibles sur les lieux de travail (lavage des mains, douche, changement de vêtements, etc.).

Tous les échantillons biologiques doivent être conservés au réfrigérateur (≈ 4 °C) en attendant leur envoi au laboratoire.

Remarque : Ils ne doivent pas être congelés.

RÉACTIFS ET ÉTALONS

- Arsénobétaïne (AsB) purum p.a. $\geq 95,0$ % NMR
- MMA 99,5 %
- DMA étalon PlasmaCAL ICP/ICPMS d'Arsenic 1000 $\mu\text{g/mL}$ provenant de sodium cacodylate trihydrate (98+%)
- As +3, Oxyde d'arsenic (III) 1000 $\mu\text{g/mL}$
- As +5, Oxyde d'arsenic (V) 1000 $\mu\text{g/mL}$
- Méthanol grade LC-MS
- Ammonium phosphate dibasique, BioUltra $\geq 99,0$ %
- Ammonium bicarbonate, BioUltra $\geq 99,5$ %
- Ammoniac, Trace metal grade
- Acide nitrique, Optima grade
- Urine synthétique, « Surine Negative Urine Control »
- Eau Milli-Q

APPAREILLAGE ET MATÉRIEL

- Chromatographe liquide à haute performance (HPLC), modèle Altus de marque Perkin-Elmer
- Spectromètre de masse à plasma d'argon induit (ICP-MS), modèle Nexion 350D de marque Perkin Elmer
- Argon d'une pureté $>99,998$ %
- Oxygène d'une pureté $>99,993$ %
- Pipettes à volume variable et répétitif
- Microtubes jetables de 1,5 mL avec bouchon (type « Eppendorf »)
- Micro-centrifugeuse Thermo Sorvall Legend micro 21
- Vials pour HPLC en polypropylène et bouchons "préfendu"
- Colonne Hamilton PRP-X100, 150 mm x 4,6 mm, 5 μm , PEEK

Commentaires :

Avant de commencer l'analyse, tous les échantillons et solutions doivent être acclimatés à la température ambiante.

PRÉPARATION DE L'ANALYSE

Nombre d'étapes de préparation : 5

Étape 1	Bien brasser les échantillons
Étape 2	Pipeter 1mL d'échantillon d'urine dans un microtube identifié et centrifugé à 14 000 rpm pendant 2 minutes
Étape 3	Dans un vial d'injection, pipeter 400µL d'urine en prenant soin de ne pas resuspendre le culot ; puis, y pipeter 400 µL d'eau Milli-Q
Étape 4	Boucher le vial en utilisant des bouchons avec septum préfundus et agiter le vial à l'aide d'un agitateur à vortex
Étape 5	Injecter et analyser par HPLC-ICP-MS

Commentaires :

Tous les étalons et échantillons de contrôle de qualité (CQ) sont traités selon la même procédure que les autres échantillons. La concentration des espèces d'arsenic déterminée dans l'échantillon doit se situer dans le domaine d'étalonnage de la méthode d'analyse. S'il s'avère que la concentration des espèces d'arsenic dans l'échantillon est supérieure à la concentration la plus élevée du domaine d'étalonnage, une dilution manuelle appropriée de l'échantillon avec de l'urine synthétique est effectuée, puis l'analyse est reprise de nouveau en tenant compte du facteur de dilution lors des calculs.

CONDITIONS ANALYTIQUES

Technique analytique : Chromatographie liquide à haute performance couplée au spectromètre de masse à plasma d'argon induit (HPLC-ICP-MS)

Phase mobile : Éluant A : 3mM ammonium phosphate dibasique, 0,011 % HNO₃, 0,04 % NH₃OH

Éluant B : 100mM ammonium bicarbonate

Éluant D : Méthanol

Gradient :

Temps (min)	Débit (mL/min)	Éluant A (%)	Éluant B (%)	Éluant D (%)	Curve
	1,4	90	5	5	
0,50	1,4	90	5	5	6
2,50	1,4	20	75	5	6
6,50	1,4	20	75	5	6
6,51	1,4	90	5	5	6
8,00	1,4	90	5	5	6

Colonne : Hamilton PRP-X100, 150 mm x 4,6 mm, 5 µm, PEEK

Température de la colonne : 35 °C

Température des échantillons : Température pièce

Volume d'injection : 20 µL

Mode d'analyse : DRC avec oxygène comme gaz réactif

isotope : 90,916i5

Temps d'analyse : 10 minutes

Temps DWELL : 350 ms

Intégration : Surface de pic

ÉTALONNAGE

La concentration de l'échantillon est déterminée par une équation de type linéaire dont l'origine est exclue. Le poids sur la corrélation est $1/x^2$, avec une équation $y=m/x^2 + b$. Une courbe est injectée au début et à la fin de la séquence d'analyse et la moyenne des deux courbes est utilisée pour la quantification afin d'amoindrir la variation intraséquence.

Commentaires :

La concentration des espèces d'arsenic déterminée dans l'échantillon doit se situer dans le domaine d'étalonnage de la méthode d'analyse. S'il s'avère que la concentration des espèces d'arsenic dans l'échantillon est supérieure à la concentration la plus élevée du domaine d'étalonnage, une dilution manuelle appropriée de l'échantillon avec de l'urine synthétique est effectuée, puis l'analyse est reprise de nouveau en tenant compte du facteur de dilution lors des calculs.

CALCULS ET EXPRESSION DES RÉSULTATS

La concentration de chaque espèce d'arsenic se calcule comme suit :

$$\text{Conc.} = \text{Conc. lue} \times D$$

Où :

Conc.	=	Concentration des espèces d'arsenic à doser (en nmol/L)
Conc. lue	=	Concentration des espèces d'arsenic à l'aide de la courbe d'étalonnage (nmol/L)
D	=	Facteur de dilution

La concentration en arsenic inorganique et ses métabolites totale s'obtient en additionnant la concentration de As +3, As +5, MMA et DMA.

VALIDATION

Remarque : Ces données de validation représentent la performance de la méthode au moment de sa publication.

Limite de détection et Limite de quantification

COMPOSÉ OU ÉLÉMENT	LIMITE DE DÉTECTION (nmol/L)	LIMITE DE QUANTIFICATION (nmol/L)
As +3	2,2	7,3
As +5	2,8	9,2
MMA	3,3	11,0
DMA	2,8	9,5

Précision (Fidélité)

COMPOSÉ OU ÉLÉMENT	RÉPLICABILITÉ (%)	RÉPÉTABILITÉ (%)
As +3	7,2	3,8
As +5	6,4	5,9
MMA	8,0	6,5
DMA	8,1	3,9

Justesse

COMPOSÉ OU ÉLÉMENT	JUSTESSE (%)
Arsenic total (AsB+As +3+As +5+MMA+DMA)	98,0

Récupération

COMPOSÉ OU ÉLÉMENT	RÉCUPÉRATION (%)
As +3	102,1
As +5	102,6
MMA	104,0
DMA	105,5

RÉFÉRENCES

Sarazin, P, Lavoué, J., Tardif, R., Lévesque, M. (2019), *Guide de surveillance biologique de l'exposition : stratégie de prélèvement et interprétation des résultats* (Guide technique T-03, 8^e édition). Montréal, QC : IRSST. Tiré de <http://www.irsst.qc.ca/media/documents/PubIRSST/T-03.pdf>

Gagné, S. (2019), *Guide de prélèvement des échantillons biologiques* (Guide technique T-25, 2^e édition). Montréal, QC : IRSST. Tiré de <http://www.irsst.qc.ca/media/documents/PubIRSST/T-25.pdf>

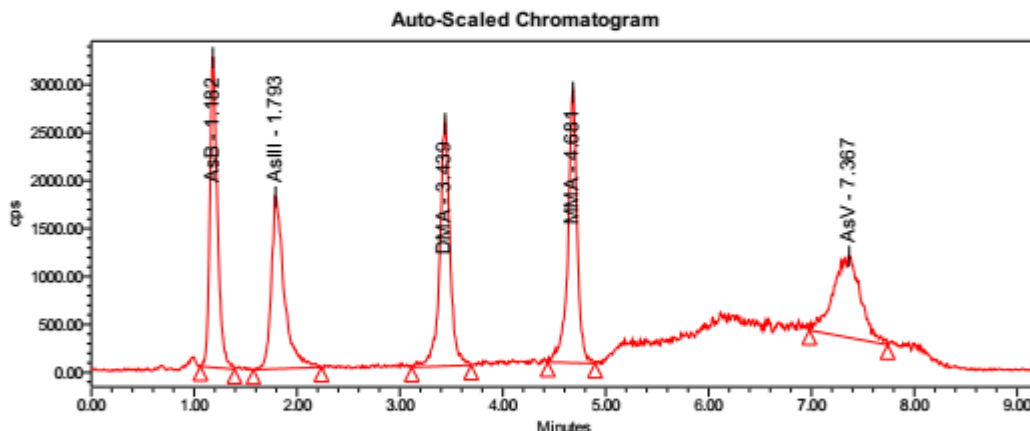
Institut national de santé publique du Québec. (2021). Répertoire des analyses. Tiré de <https://www.inspq.qc.ca/ctq/repertoire-des-analyses>

ANNEXE

Chromatogramme d'un standard S1 à 13,0 nmol/L (1.00 µg/L) d'AsB, As (III), DMA, MMA et As (V).

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	s1	Acquired By:	System
Sample Type:	Standard	Sample Set Name:	20201020
Vial:	3	Acq. Method Set:	AS speciation 20201015
Injection #:	1	Processing Method:	AsWiz
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	AsO91
Run Time:	9.2 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	AsO91, Smoothed by 7 point Savitzky-Golay Filter.
Date Acquired:	20/10/2020 1:46:53 PM EDT		
Date Processed:	23/10/2020 10:50:50 AM EDT		

SampleName	Sample Type	Vial	Inj #	Injection Volume (ul)	Acquisition Method Set	Dilution	Label	Calibration Id
1 s1	Standard	3	1	20.00	AS speciation 20201015	1.00000		26215



Peak Results
Result Id: 26258

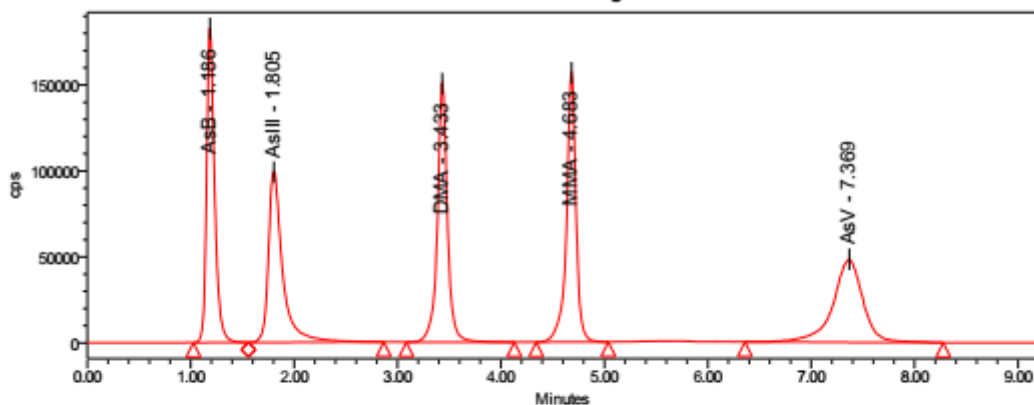
	Name	RT	Area	Height	Amount	Units	Result Id
1	AsB	1.182	16660	3246	0.973	µg/L	26258
2	AsIII	1.793	15634	1825	0.995	µg/L	26258
3	DMA	3.439	17720	2521	0.984	µg/L	26258
4	MMA	4.681	17731	2840	0.973	µg/L	26258
5	AsV	7.367	15733	854	1.061	µg/L	26258

Chromatogramme d'un standard S7 à 801 nmol/L (60.0 µg/L) d'AsB, As (III), DMA, MMA et As (V).

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	s7	Acquired By:	System
Sample Type:	Standard	Sample Set Name:	20201020
Vial:	9	Acq. Method Set:	AS specification 20201015
Injection #:	1	Processing Method:	AsWiz
Injection Volume:	20.00 µl	Channel Name:	AsO91
Run Time:	9.2 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	AsO91, Smoothed by 7 point Savitzky-Golay Filter.
Date Acquired:	20/10/2020 2:51:08 PM EDT		
Date Processed:	23/10/2020 10:50:50 AM EDT		

SampleName	Sample Type	Vial	Inj #	Injection Volume (µl)	Acquisition Method Set	Dilution	Label	Calibration Id
1 s7	Standard	9	1	20.00	AS specification 20201015	1.00000		26215

Auto-Scaled Chromatogram



Peak Results

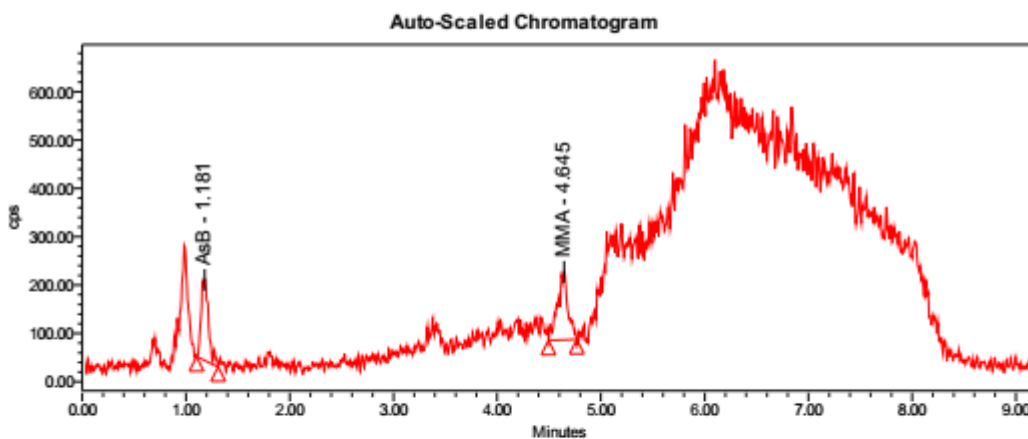
Result Id: 26264

	Name	RT	Area	Height	Amount	Units	Result Id
1	AsB	1.166	981956	182886	57.008	µg/L	26264
2	AsIII	1.805	950021	99360	57.336	µg/L	26264
3	DMA	3.433	1026632	150426	57.362	µg/L	26264
4	MMA	4.683	1006135	157158	55.510	µg/L	26264
5	AsV	7.369	976151	48301	57.203	µg/L	26264

Chromatogramme d'un standard S0 à 0,00 µg/L d'AsB, As (III), DMA, MMA et As (V).

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	s0	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	20201020
Vial:	2	Acq. Method Set:	AS speciation 20201015
Injection #:	1	Processing Method:	AsWiz
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	AsO91
Run Time:	9.2 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	AsO91, Smoothed by 7 point Savitzky-Golay Filter.
Date Acquired:	20/10/2020 9:51:08 AM EDT		
Date Processed:	23/10/2020 10:50:48 AM EDT		

SampleName	Sample Type	Vial	Inj #	Injection Volume (ul)	Acquisition Method Set	Dilution	Label	Calibration Id
1 s0	Unknown	2	1	20.00	AS speciation 20201015	1.00000		26215



Peak Results

Result Id: 26236

	Name	RT	Area	Height	Amount	Units	Result Id
1	AsB	1.181	839	169	0.054	µg/L	26236
2	AsIII	1.787					26236
3	DMA	3.436					26236
4	MMA	4.645	973	141	0.049	µg/L	26236
5	AsV	7.340					26236