

Méthode analytique

Dosage de l'acide S-phénylmercapturique urinaire

Responsable technique de la méthode

Sébastien Gagné, M. Sc., chimiste toxicologue

Personne ayant contribué à la présente version de cette méthode

Éric Langlois, technicien de laboratoire

MÉTHODES DE
LABORATOIRES

MA-383

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, 2022
TSRNI · 978-2-89797-207-3 (PDF)

BIOMARQUEUR	VALEUR RECOMMANDÉE (IBE ¹)
Acide S-phénylmercapturique (SPMA) urinaire	12 nmol/mmol cr.

¹ IBE (Indice Biologique d'Exposition)

APPLICABILITÉ

SPMA urinaire : IBE établi suivant une exposition de benzène à 0,5ppm dans l'air (ACGIH, 2021).

Domaine : 1 à 400 nmol/L

Coefficient de détermination (r^2) > 0,995

LIMITATIONS ET INTERFÉRENCES

On distingue deux types d'interférences : les effets de matrice et les composés apparentés. 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. Une diminution de la sélectivité de la méthode peut aussi être observée par la présence de composés apparentés éluant près du composé d'intérêt et dont l'ionisation conduit à la présence des mêmes transitions que le composé évalué, soit un rapport masse/charge de l'ion précurseur et de l'ion fragment équivalent. Les ions de ces composés apparentés sont formés lors de la nébulisation et l'ionisation de ceux-ci à la sortie du chromatographe et ils sont fragmentés lors de leur passage dans la cellule de collision du spectromètre de masse en tandem de la même façon que l'ion précurseur. L'aire du pic calculée peut ainsi être surévaluée et/ou mal interprétée. 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 :

- ▶ Ajout d'un étalon interne aux solutions d'étalonnage et aux échantillons;
- ▶ Appariement de la composition (matrice) des solutions d'étalonnage et celle des solutions d'échantillon;
- ▶ Comparaison des ratios ioniques de deux ions par pics chromatographiques d'intérêts entre un étalon et l'échantillon;
- ▶ Dilution de l'échantillon pour diminuer les effets matrices 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 du quart de travail

3) Durée de conservation testée et validée

Non évalué à l'IRSST (Référence : NMS Labs)

4) Entreposage

Au réfrigérateur ($\approx 4\text{ }^{\circ}\text{C}$)
Durée maximale : 15 jours

Au congélateur ($\approx -20\text{ }^{\circ}\text{C}$)
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 ($\approx 4\text{ }^{\circ}\text{C}$) en attendant leur envoi au laboratoire.

Remarque : Ils ne doivent pas être congelés.

RÉACTIFS ET ÉTALONS

- SPMA, $\geq 97,0\%$
- SPMA-d5, $\geq 98,0\%$ (98%+ atom D).
- Acide acétique glacial (CH_3COOH), grade HPLC
- Acétonitrile (ACN), Optima Grade LC/MS
- Eau, Grade LC/MS
- Méthanol (CH_3OH), Optima Grade LC-MS
- Urine synthétique, Surine Negative Urine Control
- ClinChek® Urine Control

APPAREILLAGE ET MATÉRIEL

- UPLC-MS/MS
- Argon de pureté $> 99,997\%$
- Générateur d'azote pour pureté $\geq 95\%$
- Pipettes à volume variable ($2\mu\text{L}$ - $1000\mu\text{L}$)
- Embouts pour pipette
- Pipette répétitive de type Eppendorf
- Microtube jetable de 1,5 mL
- Microcentrifugeuse
- Vial d'injection HPLC en verre avec insert de $300\mu\text{L}$ et bouchon "préfendu"

Commentaires :

Avant de commencer l'analyse, attendre que toutes les solutions et tous les échantillons soient à la température ambiante.
UPLC-MS/MS = Waters Acquity Xevo-TQ-XS avec injecteur FTN (Flow Through Needle)

PRÉPARATION DE L'ANALYSE

Nombre d'étapes de préparation : 8

Étape 1	Bien brasser les échantillons
Étape 2	Pipetter 50 µL d'échantillon d'urine dans un microtube identifié et ajouter 200µL d'un mélange CH ₃ OH/ACN 50/50 v/v contenant du standard interne (25 nM)
Étape 3	Boucher et agiter à l'aide d'un vortex 5 secondes
Étape 4	Centrifuger 5 minutes à 14300 rpm
Étape 5	Pipetter 150µL d'eau milli-Q dans un vial d'injection avec "insert"
Étape 6	Transférer 50µL de surnageant dans le même vial
Étape 7	Boucher les vials avec des bouchons munis de septum pré-fendus
Étape 8	Agiter à l'aide d'un vortex et injecter 10 µL sur UPLC-MS/MS

Commentaires :

Tous les standards et échantillons de contrôle de qualité (CQ) sont traités selon la même procédure que les autres échantillons.

CONDITIONS ANALYTIQUES

Technique analytique : Chromatographie liquide à ultra performance couplé à la spectrométrie de masse en tandem (UPLC-MS/MS)

Phase mobile : Éluant A : CH₃OH + 0,1 % CH₃COOH / Éluant B : Eau + 0,1 % CH₃COOH

Gradient :

Temps (min)	Débit (mL/min)	H ₂ O + 0,1% CH ₃ COOH (%)	CH ₃ OH + 0,1% CH ₃ COOH (%)	Courbe du gradient
0	0,6	67	33	
1,70	0,6	67	33	6
1,71	0,65	5	95	6
2,30	0,65	5	95	6
2,31	0,6	67	33	6
3,20	0,6	67	33	6

Colonne : Waters Acquity UPLC HSS T3, 1,8 µm, 2,1 x 50mm

Température de la colonne : 45 °C

Température des échantillons : 15 °C

Volume d'injection : 10 µL

Mode d'ionisation : Électronébulisation négatif (ESI-)

Paramètres MRM :

Canaux	Analyte	Ion parent (m/z)	Ion fille (m/z)	Temps de résidence (s)	Cone (V)	Collision (eV)
1	SPMA	239,0	109,0	0,350	12	16
2	SPMA-d ₅	243,0	114,0	0,050	12	16

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.

Commentaires :

La concentration de SPMA déterminée dans l'échantillon doit se situer dans le domaine d'étalonnage de la méthode d'analyse. S'il s'avère que la concentration de SPMA 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 SPMA se calcule comme suit :

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

Où :

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

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)
SPMA	0,1	0,4

Précision (Fidélité)

COMPOSÉ OU ÉLÉMENT	RÉPLICABILITÉ (%)	RÉPÉTABILITÉ (%)
SPMA	5,8	3,8

Justesse

COMPOSÉ OU ÉLÉMENT	JUSTESSE (%)
SPMA	95

Récupération

COMPOSÉ OU ÉLÉMENT	RÉCUPÉRATION (%)
SPMA	88

Pour information supplémentaire, se référer au *Document Explicatif pour éléments de validation de méthodes*, I-G-041, de la Direction des Laboratoires de l'IRSST.

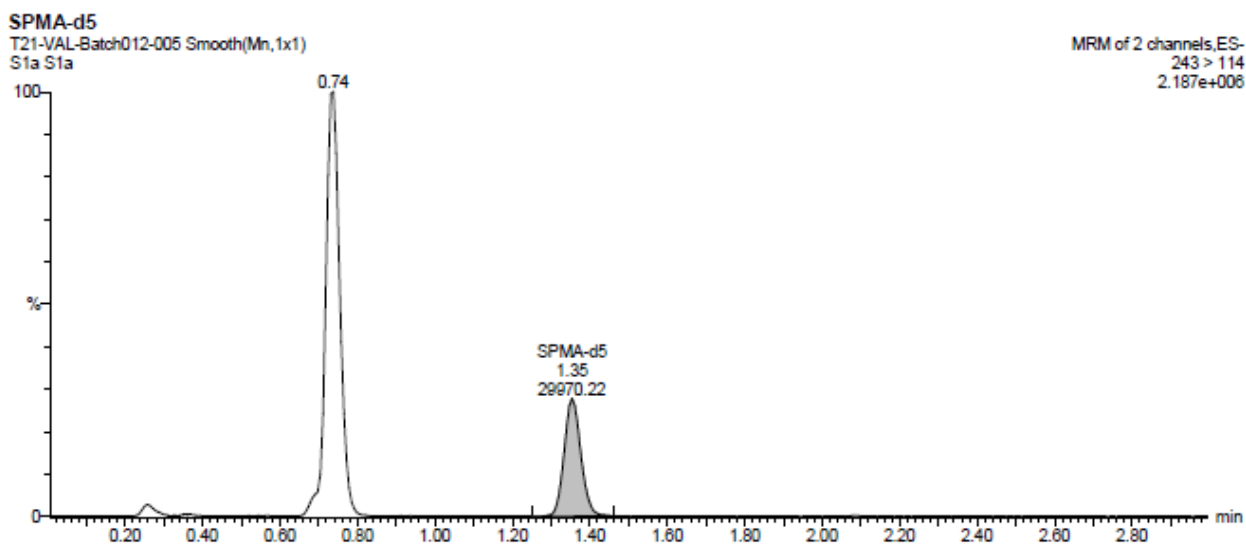
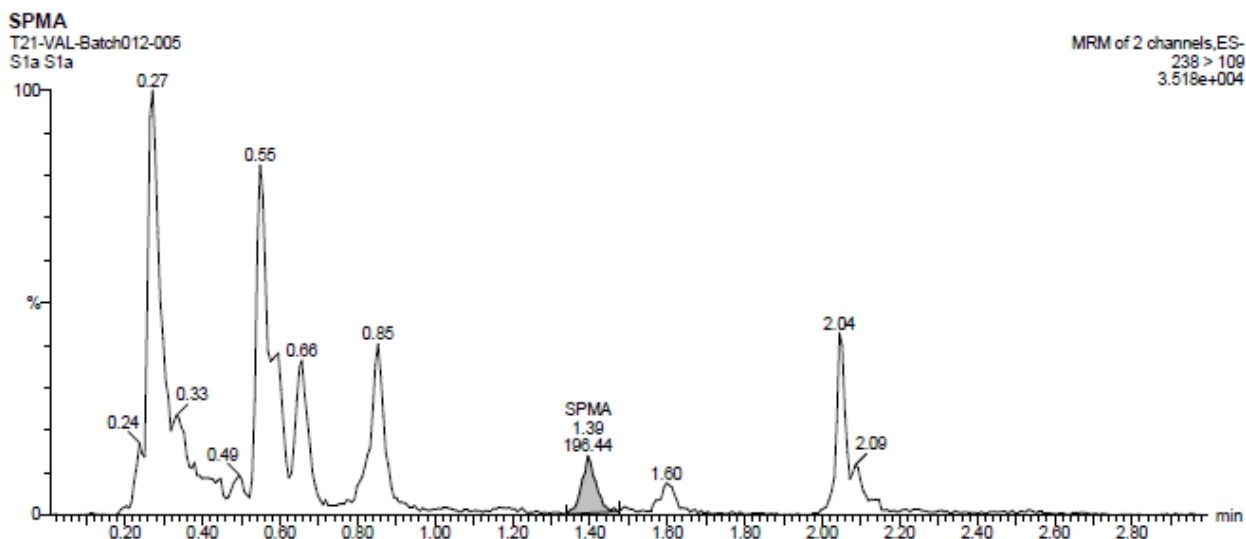
RÉFÉRENCES

1. American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). « TLVs® and BEIs®, Based on the Documentation of the Threshold Limits Values for Chemical Substances and Physical Agents & Biological Exposure Indices » ACGIH, Cincinnati, OH, USA, 2021, 276 p.
2. Institut de recherche en santé et sécurité au travail (IRSST). « Guide de surveillance biologique de l'exposition – Stratégie de prélèvement et interprétation des résultats », *Études et recherches*, Guide technique T-03, 8^e édition, 2019, 129 p.
<http://www.irsst.qc.ca/media/documents/PubIRSST/T-03.pdf>
3. Institut de recherche en santé et sécurité au travail (IRSST). « Guide de prélèvement des échantillons biologiques », *Études et recherches*, Guide technique T-25, version 2, 2019, 29 p.
<http://www.irsst.qc.ca/media/documents/PubIRSST/T-25.pdf>

ANNEXE

Chromatogramme d'un standard dans l'urine à 1,0 nmol/L (0,239 ng/mL) de SPMA

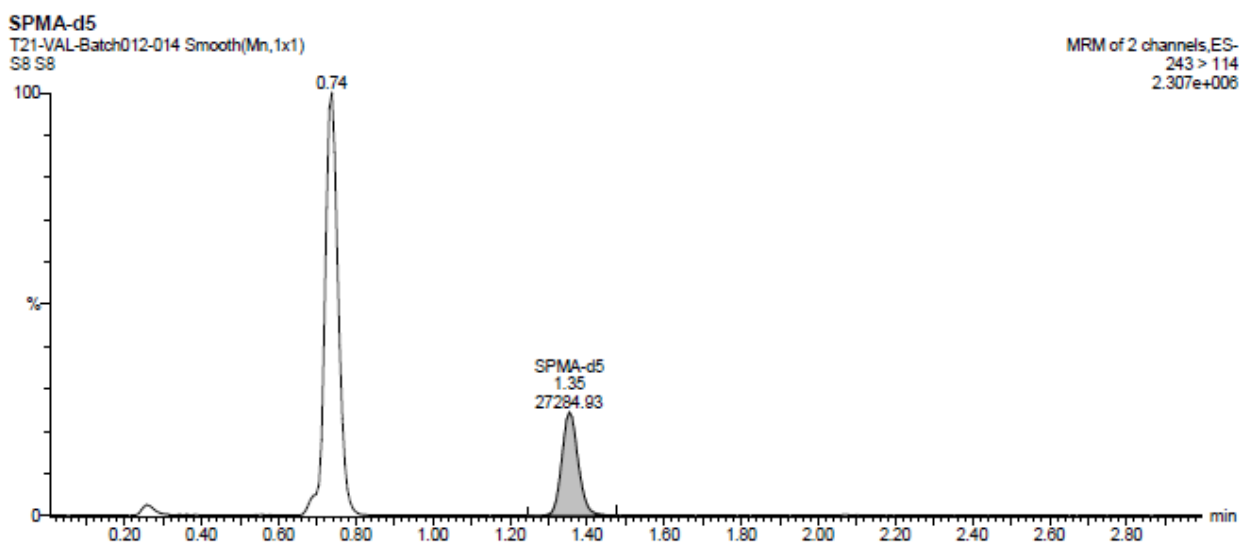
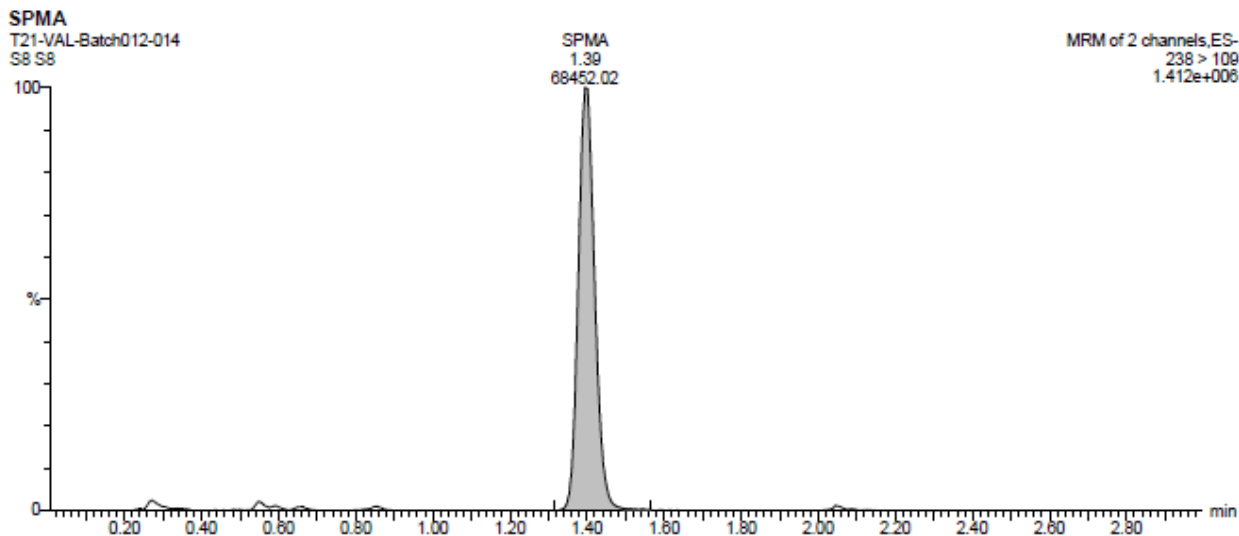
Name: T21-VAL-Batch012-005, Date: 05-Nov-2021, Time: 15:23:34, ID: S1a, Description: S1a



#	Name	Trace	RT	Area	IS Area	Response	Primar...	nM	%Dev
1	1 SPMA	238 > 109	1.39	196.436	29970.219	0.007	bb	1.0	-2.2
2	2 SPMA-d5	243 > 114	1.35	29970.219		29970.219	bb	1.0	4.8

Chromatogramme d'un standard dans l'urine à 400 nmol/L (95,7 ng/mL) de SPMA

Name: T21-VAL-Batch012-014, Date: 05-Nov-2021, Time: 15:58:46, ID: S8, Description: S8

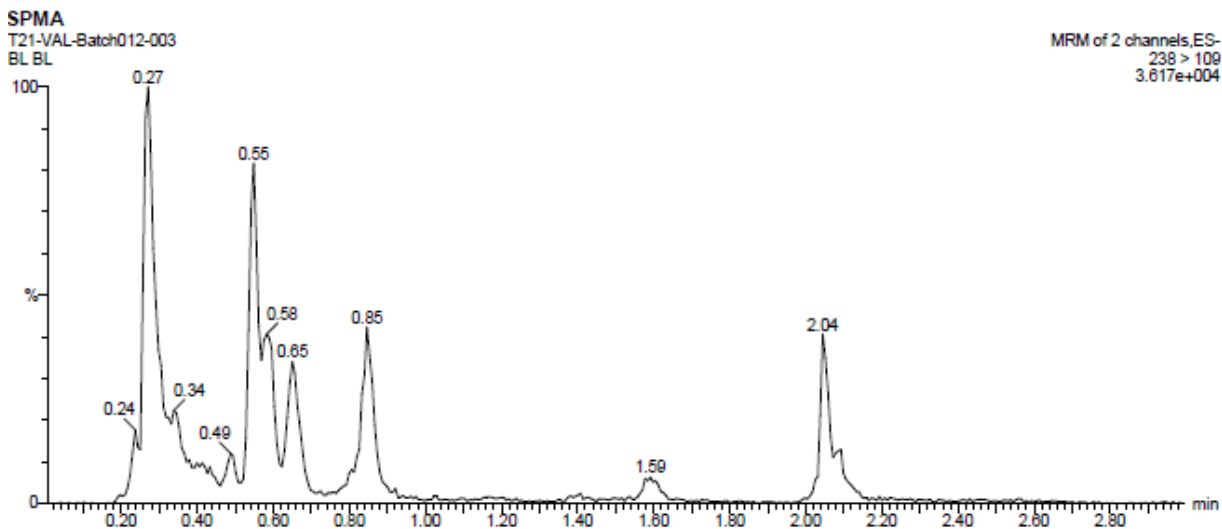


#	Name	Trace	RT	Area	IS Area	Response	Primar...	nM	%Dev
1	1 SPMA	238 > 109	1.39	68452.016	27284.934	2.509	bb	403.8	1.0
2	2 SPMA-d5	243 > 114	1.35	27284.934		27284.934	bb	1.0	-4.6



Chromatogramme d'un blanc d'urine à 0,0 nmol/L (0,0 ng/mL) de SPMA

Name: T21-VAL-Batch012-003, Date: 05-Nov-2021, Time: 15:15:46, ID: BL, Description: BL



#	Name	Trace	RT	Area	IS Area	Response	Primar...	nM	%Dev
1	1 SPMA	238 > 109							
2	2 SPMA-d5	243 > 114					MM-		