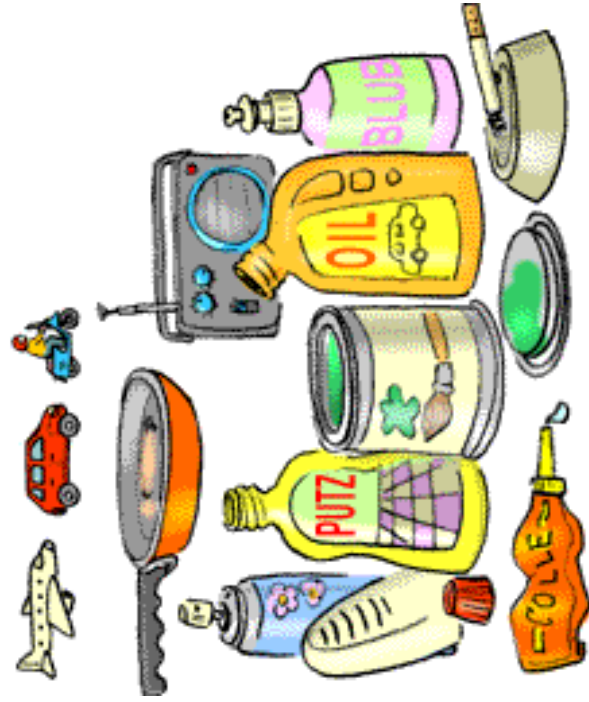




Développement de méthodes LC-MS/MS novatrices pour le dosage de biomarqueurs urinaires de composés organiques volatils en lien avec les changements de l'annexe 1 du RSST

Sébastien Gagné et Éric Langlois
Direction des laboratoires

Approches complémentaires utiles en prévention

Surveillance environnementale	Surveillance biologique
Conformité à la norme	Charge corporelle totale (inhalation/cutanée/digestive)
Effet local	Augmentation charge de travail
Modifications au milieu de travail	Impact des équipements de protection personnel
Interactions métaboliques	
Absence d'indice biologique d'exposition (IBE)	

Lecture préalable à la surveillance biologique



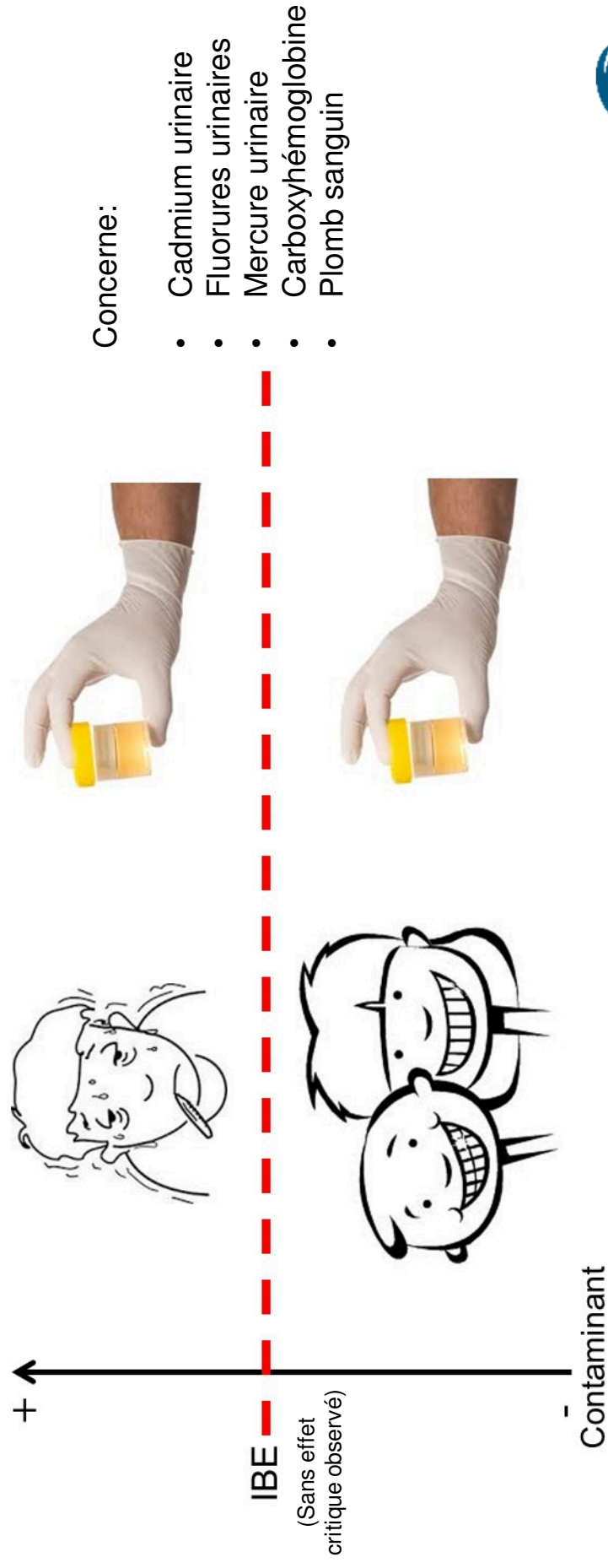
Surveillance biologique

- Biomarqueur
 - Substance parente
 - Ex.: Cobalt
 - Métabolite
 - Ex.: SPMA pour le benzène
- Milieu biologique
 - Sang
 - Urine

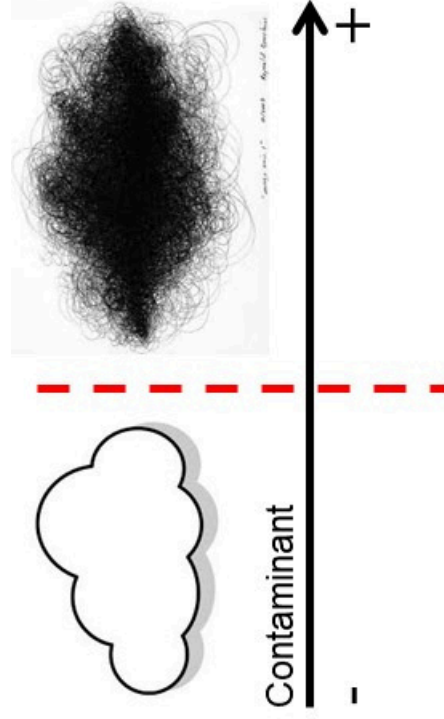
Surveillance biologique – valeur de référence

- Indice biologique de l'exposition (IBE)
- L'ACGIH propose des IBE pour 54 substances (2022)
 - Métaux, COV, etc.
- Les IBE applicables au Québec sont établis selon des relations:
 - Effet/dose interne
 - Dose externe/dose interne

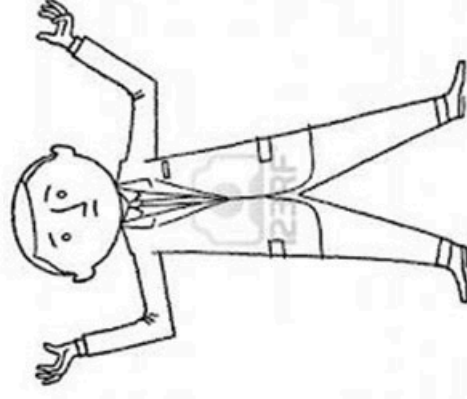
Relation effet/dose interne



Relation dose externe/dose interne



Les COV font partie
de cette catégorie
(prélèvement urinaire)



COV impactés par les changements de l'annexe 1

- **Éthylbenzène**
 - VEMP: 100 ppm → **20 ppm**
 - IBE: 0,53 mmol/mmol créatinine → **0,11 mmol/mmol créatinine**
- **Benzène**
 - VEMP: 1 ppm → **0,5 ppm**
 - IBE: 21 nmol/mmol créatinine → **12 nmol/mmol créatinine**
- **Toluène**
 - VEMP: 50 ppm → **20 ppm**
 - **IBE***: 0,72 µmol/mmol créatinine → **0,3 µmol/mmol créatinine**

(*après hydrolyse)

Méthodes d'analyses urinaires impactées par les changements

- Acide mandélique et acide phénylglyoxylique (biomarqueurs de l'éthylbenzène)
 - Préparation de l'échantillon: dilue l'urine et injecte
 - Appareil analytique: UPLC-MS/MS
- Acide S-phénylmercapturique (biomarqueur du benzène)
 - Préparation de l'échantillon: dilue l'urine et injecte
 - Appareil analytique: UPLC-MS/MS
- o-crésol (biomarqueur du toluène)
 - Préparation de l'échantillon: extraction liquide/liquide de l'urine
 - Appareil analytique: GC-FID

La technologie UPLC-MS/MS



- Acquity Xevo TQ-XS de marque Waters
- AML/AP, SPMA et o-crésol urinaires seront analysés par cet appareil

Acide mandélique (AML) et acide phénylglyoxylique (AP) (biomarqueurs de l'éthylbenzène)

Utilisation de l'éthylbenzène

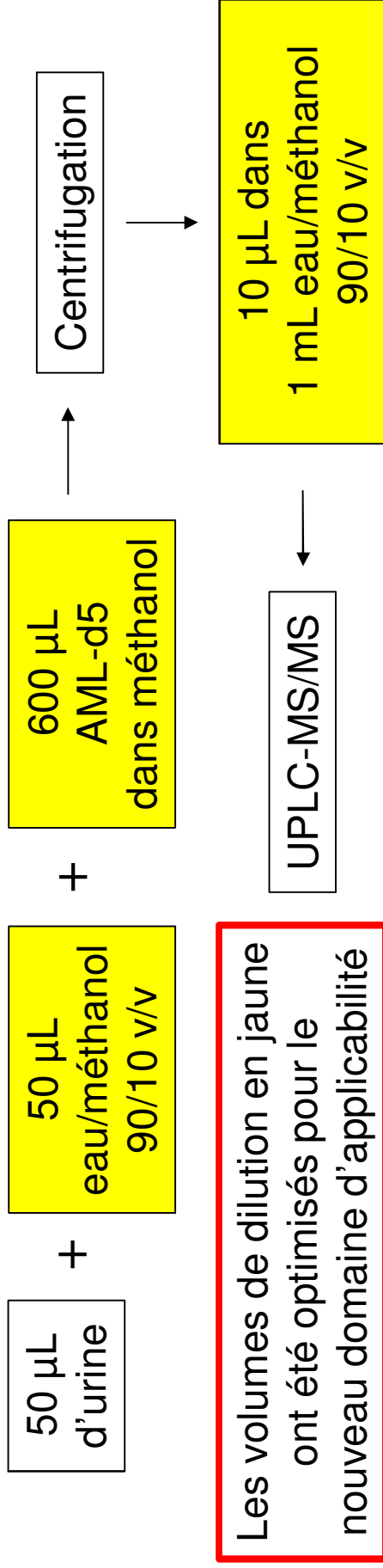
- Industries du caoutchouc et des matières plastiques
- Fabrication du styrène monomère
- Solvant pour les peintures, mélangé au xylène
- Composant pour les carburants d'aviation et automobile
- Intermédiaire dans la fabrication de plusieurs produits chimiques

Toxicité de l'éthylbenzène

- Irritant modéré
- Dépression du système nerveux central
- Perte auditive potentiel
- Dommages potentiels au foie et aux reins
- Peut-être cancérigène pour l'homme (IARC: groupe 2B)

Méthode d'analyse – préparation de l'échantillon

- IBE: **0,11 mmol**/mmol créatinine
- Dilution de l'urine et injection au UPLC-MS/MS



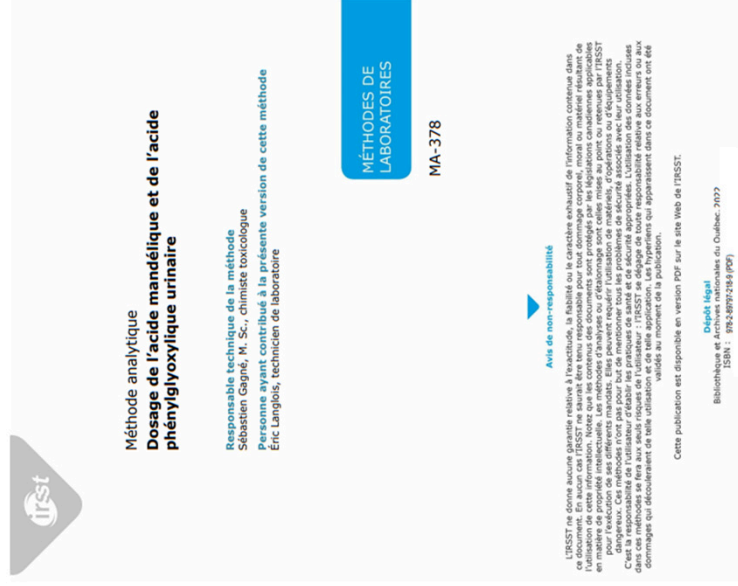
Méthode AML/AP – Performances analytiques

Paramètre	AML	AP
Linéarité (mmol/L)	0,03 - 36	0,006 - 7,2
LD (mmol/L)	0,003	0,001
LQ (mmol/L)	0,009	0,003
Répétabilité (%)	2,0	2,7
Répliquabilité (%)	1,9	4,4
Justesse (%)	99,6	90,2
VMR (mmol/L)	0,03	0,006

La nouvelle méthode couvre le domaine d'applicabilité nécessaire pour le nouvel IBE



Méthode AML/AP - Publication



- Disponible sur le site web de l'IRSST

<https://www.irsst.qc.ca/media/documents/PubIRSST/MA-378.pdf?v=2023-02-10>



Lorsque imprimé, ce document est sous contrôle. SVP vous référer au document disponible sur support informatique.
No. Révision : 5.0 - Date de diffusion : 2022-02-28 01:39:12 pm

Acide S-phénylmercapturique (SPMA) (biomarqueur du benzène)

Utilisation du benzène

- Produit de distillation du pétrole
 - Raffinerie et citerne
- Solvant dans l'industrie du caoutchouc, du textile et de l'imprimerie
- Solvant de laboratoire en chimie
- Présent entre 1% et 5% dans le gaz pour les véhicules
 - Mécanicien et pompiste
- Fumée de cigarette et pollution urbaine (source extra-professionnel)

Toxicité du benzène

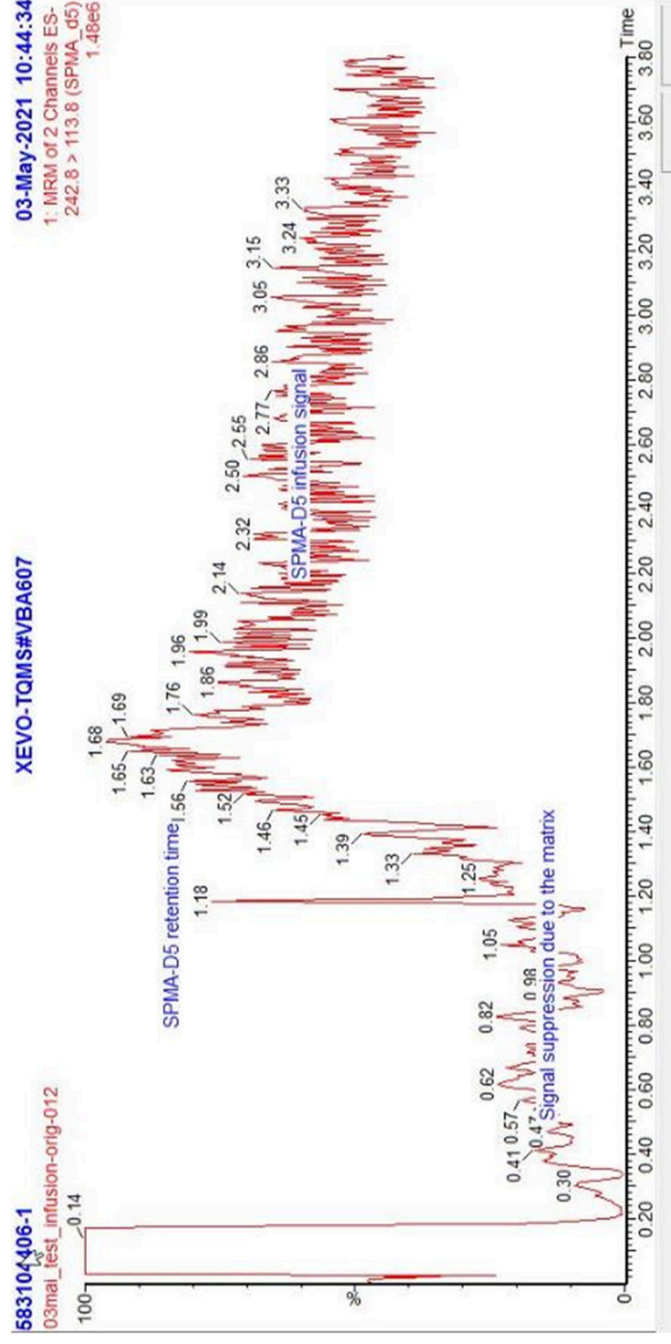
- Dépression du système nerveux central
- Anémie, leucopénie, thrombocytopénie
- Leucémie
- Cancérogène chez l'humain (IARC: groupe 1)

Méthode d'analyse SPMA

- Ancienne valeur
 - VEMP: 1 ppm → IBE: 21 nmol/mmol créatinine
- Nouvelle valeur
 - VEMP: 0,5 ppm → IBE: 12 **n**mol/mmol créatinine
- Le benzene est un cancérogène confirmé chez l'humain
 - Principe ALARA peut s'appliquer en prévention
 - Non-fumeur: $0,9 \pm 0,1$ nmol/mmol créatinine
 - Fumeur: $1,7 \pm 0,3$ nmol/mmol créatinine

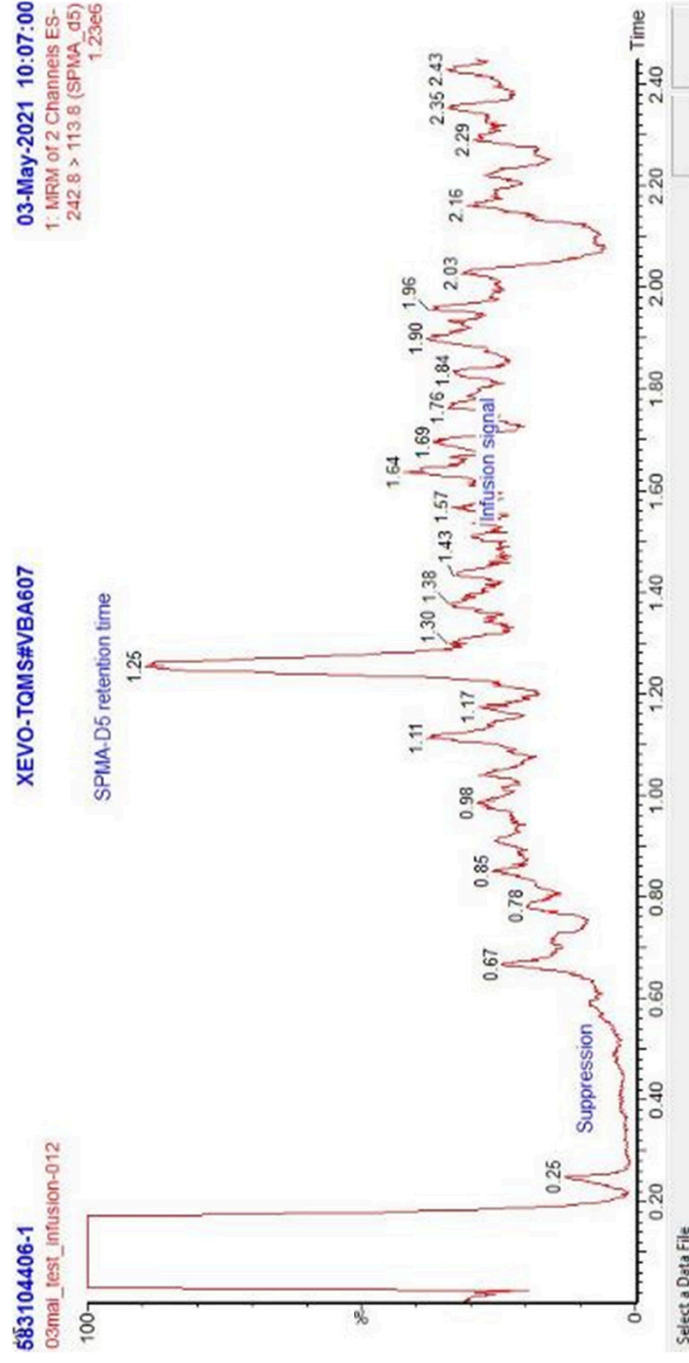
La limite de quantification visée est de 1 nmol/L

Méthode SPMA – ancienne version



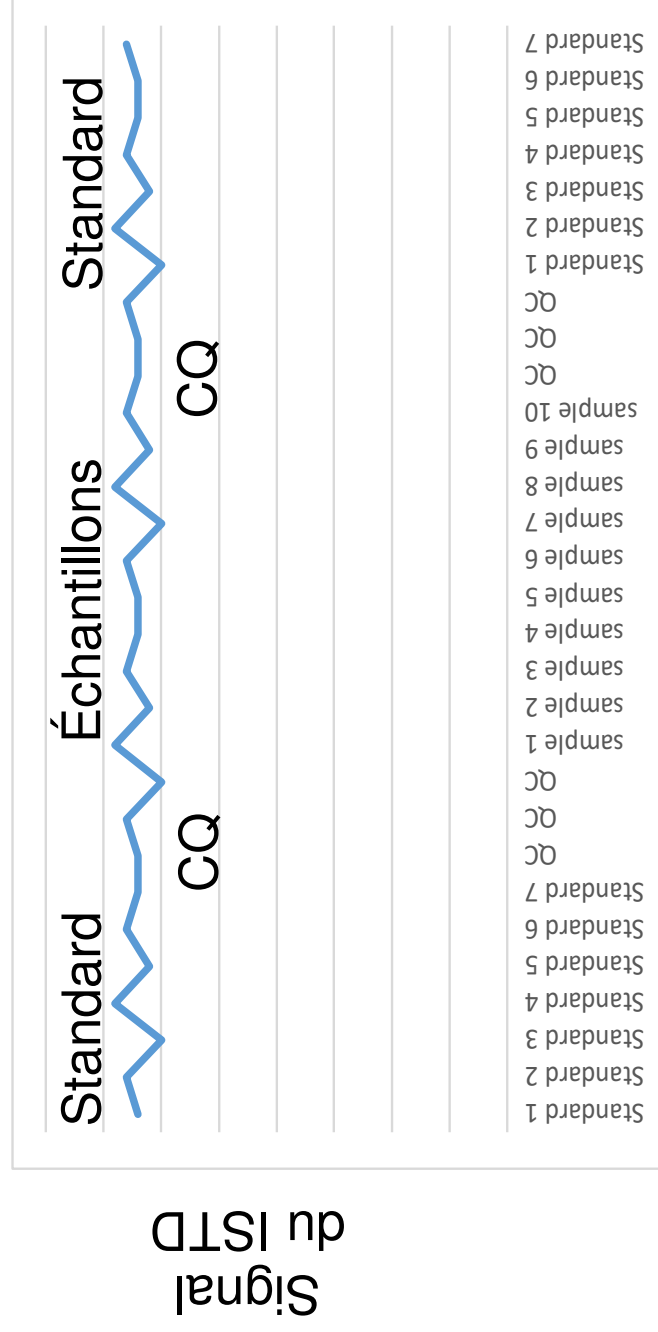
Suppression ionique observée: SPMA co-élue avec des interférents de la matrice

Méthode SPMA – Chromatographie optimisée et dilution augmentée



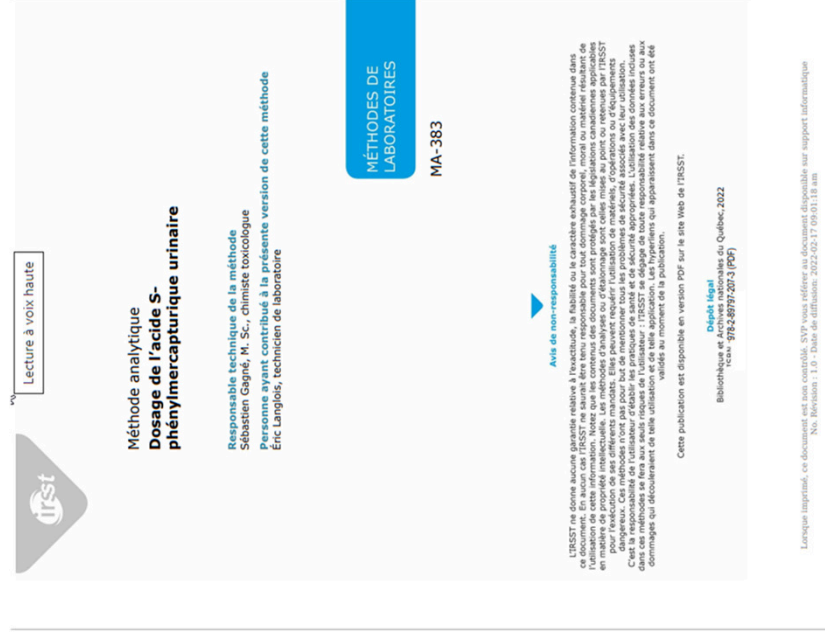
Nouvelle chromatographie sépare le SPMA des supresseurs de signal de la matrice

Méthode SPMA – conditions optimisés



- Variation du signal minimisée
- Détection robuste pour 1nmol/L (exactitude = 98% $\pm$ 3,8%) confirmé chez plusieurs donneurs d'urine – Application du principe ALARA possible

Méthode SPMA - Publication



- Disponible sur le site web de l'IRSST

<https://www.irsst.qc.ca/media/documents/PubIRSST/MA-383.pdf?v=2023-02-10>



O-crésol

(biomarqueur du toluène)

Usage du toluène

- Solvant à peinture
- Peintures, encres, laques
- Adhésif et caoutchouc
- Production de benzène, polymères, polyuréthanes et TNT

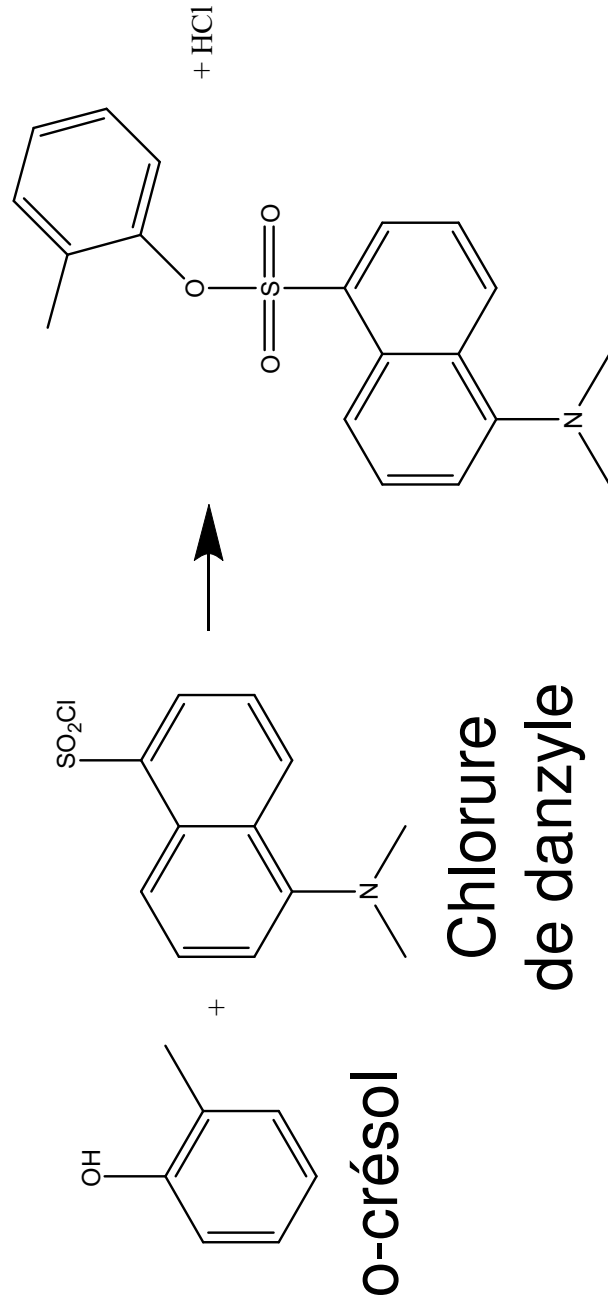
Toxicité du toluène

- Effet sur le système nerveux
 - Maux de tête, vertiges et perte de conscience
 - Manque de coordination, déficience cognitive et perte auditive
- Effet sur le développement
 - Retard sur les habiletés mentales
 - Croissance des enfants
- Impact sur le système immunitaire, les reins, le foie et système reproducteur

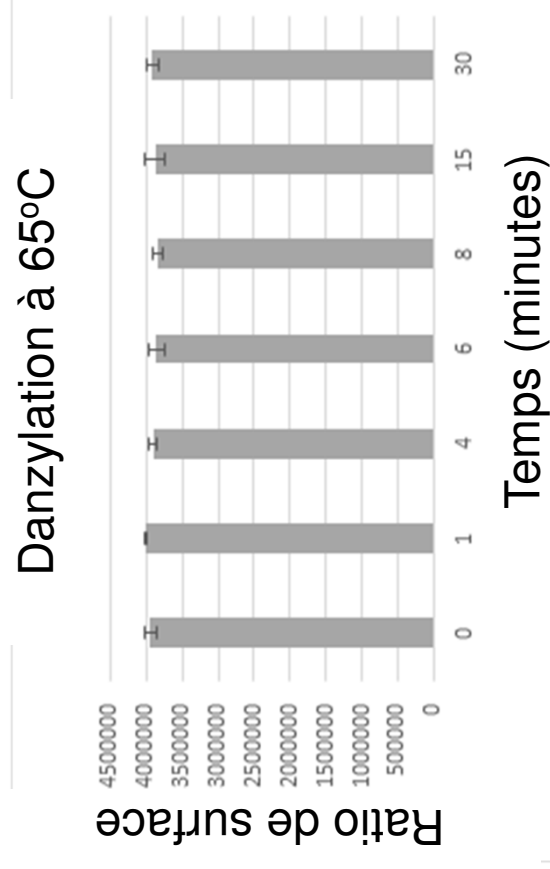
Méthode o-crésol

- IBE: 0,3 μ mol/mmol créatinine (après hydrolyse)
- Ancienne version: GC-FID
 - Nombreuses interférences
 - Limite de détection: 5 μ mol/L
- Nouvelle version: UPLC-MS/MS
 - Conversion du o-crésol
 - En molécule non-volatile
 - Facilement ionisable en solution

Méthode o-crésol – dérivatization au chlorure de danzyle

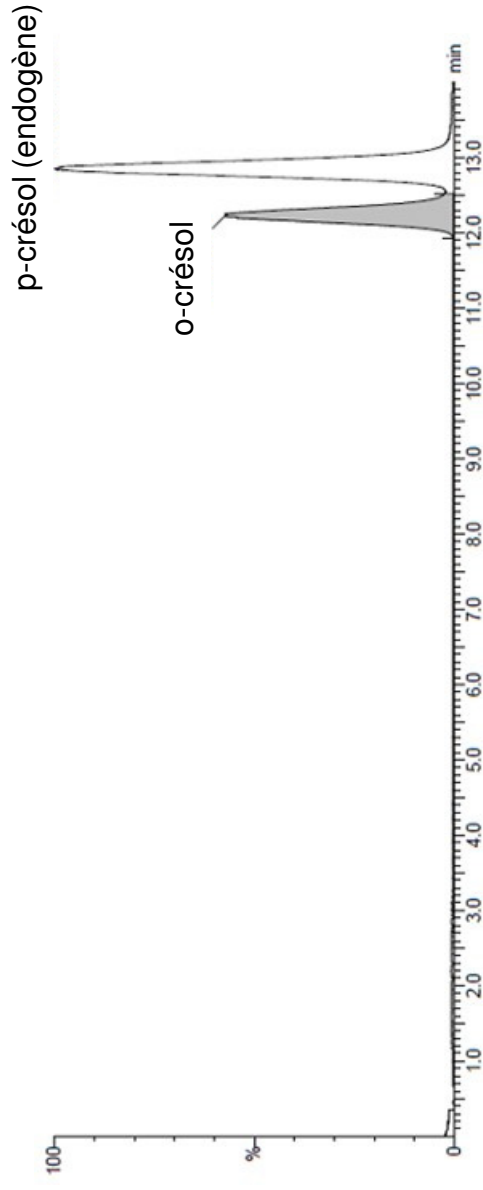


Méthode o-crésol – optimisation de la danzylation



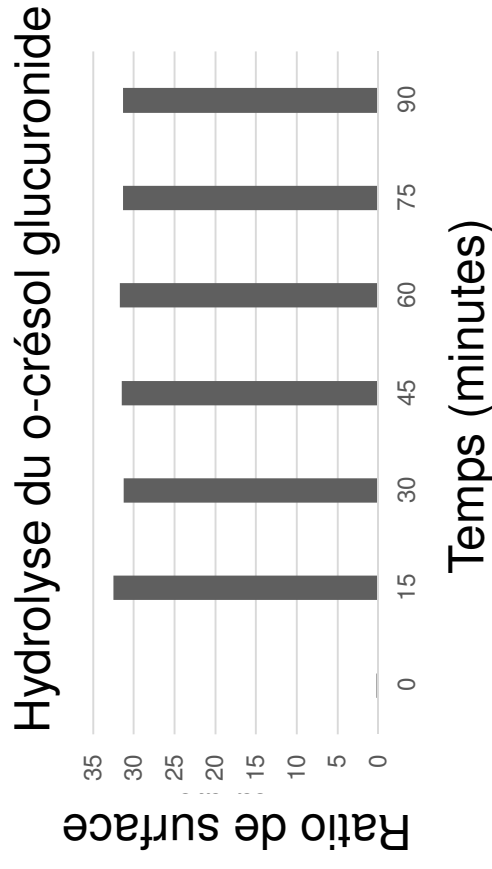
- Littérature: température de réaction, pH et milieu réactionnel
- La réaction se produit rapidement (3 minutes)

Méthode o-crésol – séparation chromatographique



- Colonne: Waters Acquity UPLC BEH Phenyl, 1,7 μm , 2,1 mm x 100 mm
- Isocratique: (85% méthanol / 15% H_2O :2-propanol, 80:20, v/v); avec 0,1% acide formique
- 0,6 mL/min; 80°C

Méthode o-crésol – efficacité de l'hydrolyse



- Hydrolyse rapide avec l'acide chlorhydrique chauffé à 99°C
- Temps d'hydrolyse retenu: **45 minutes**

Méthode o-crésol – Performances analytiques

IBE	0,3 µmol/mmol créatinine → (1,32 µmol/L à 7,95 µmol/L)
Domaine de linéarité	0,4 – 40 µM
Coefficient de détermination (R ²)	> 0.995
Limite de détection (LD) (n=10)	0,06 µM
Limite de quantification (LQ) (n=10)	0,21 µM
Réplicabilité (n= 24)	3,3%
Répétabilité (n=24)	4,4%
Récupération (%)	98 +/- 2

Justesse	Valeurs références (tolérance) (µmol/L)	Valeurs mesurées (µmol/L)
ClinChek® Level I	2,14 (1,50 – 2,79)	<u>2,18</u>
ClinChek® Level II	26,0 (19,5 – 32,6)	<u>25,8</u>
CQ maison Niveau I	1,42 (1,21 – 1,63)	<u>1,45</u>
CQ maison Niveau II	18,4 (15,6 – 21,2)	<u>18,8</u>

- Les performances analytiques permettent de couvrir l'IBE de l'ACGIH et de détecter les niveaux de la population non-exposé professionnellement

Méthode o-crésol - Publications

- Manuscrit soumis à *Rapid Communications in Mass Spectrometry*
- Publication IRSST à venir

Conclusion

- La direction des laboratoires de l'IRSST a adapté plusieurs méthodes en fonction des changements de l'annexe 1 du RSST
- Les nouvelles méthodes de surveillance biologique peuvent être utilisées pour mener des activités de prévention en entreprise
- La direction des laboratoires demeure à l'affut des autres changements à venir au RSST et modifiera ses méthodes si requis pour que les intervenants les incorporent dans leur activités de prévention

Questions

