



Service de Toxicologie

## Rapport de laboratoire - programme de Biomonitoring humain Wallon

### PHASE 3 : adultes 40-59 ans (2023)

**Méthodes d'analyse des bisphénols, des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAPs), des pesticides pyréthrinoïdes et organophosphorés, du glyphosate, du mercure dans l'urine, des PCBs, des pesticides organochlorés et des substances perfluorées (PFAS) dans le sang**

**Juillet 2024**

Professeure Corinne Charlier

Cheffe de Service

Toxicologie clinique, médico-légale, de  
l'environnement et en entreprise, CHU Liège

Catherine Pirard

Responsable scientifique

Toxicologie clinique, médico-légale, de  
l'environnement et en entreprise, CHU Liège

## **TABLE DES MATIERES**

TABLE DES ACRONYMES.....	4
1 INTRODUCTION .....	6
2 DESCRIPTION DES MÉTHODES ANALYTIQUES.....	7
2.1 DOSAGE DES BISPHÉNOLS.....	7
2.1.1 Extraction .....	7
2.1.2 Analyse par GC-MS/MS .....	7
2.1.3 Détermination des concentrations dans les échantillons inconnus .....	8
2.1.4 Limites de quantification.....	9
2.2 DOSAGE DU MERCURE .....	10
2.2.1 Préparation de l'échantillon.....	10
2.2.2 Analyse par FIMS.....	10
2.2.3 Détermination des concentrations dans les échantillons inconnus .....	10
2.2.4 Limites de quantification.....	10
2.3 DOSAGE DE MÉTABOLITES D'HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES (HAPs) 11	
2.3.1 Préparation de l'échantillon.....	11
2.3.2 Analyse par GC-MS/MS .....	11
2.3.3 Détermination des concentrations dans les échantillons inconnus .....	12
2.3.4 Limites de quantification.....	13
2.4 DOSAGE DE MÉTABOLITES DE PESTICIDES PYRÉTHRINOÏDES .....	14
2.4.1 Préparation de l'échantillon.....	14
2.4.2 Analyse par GC-MS/MS .....	14
2.4.3 Détermination des concentrations dans les échantillons inconnus .....	15
2.4.4 Limites de quantification.....	16
2.5 DOSAGE DE MÉTABOLITES DE PESTICIDES ORGANOPHOSPHORÉS SPÉCIFIQUES... 16	
2.5.1 Préparation de l'échantillon.....	16
2.5.2 Analyse par GC-MS/MS .....	16
2.5.3 Détermination des concentrations dans les échantillons inconnus .....	16
2.5.4 Limites de quantification.....	16
2.6 DOSAGE DE MÉTABOLITES DE PESTICIDES ORGANOPHOSPHORÉS NON- SPÉCIFIQUES.....	17

2.6.1	Préparation de l'échantillon.....	17
2.6.2	Analyse par GC-MS/MS .....	17
2.6.3	Détermination des concentrations dans les échantillons inconnus .....	18
2.6.4	Limites de quantification.....	18
2.7	DOSAGE DU GLYPHOSATE .....	19
2.7.1	Préparation de l'échantillon.....	19
2.7.2	Analyse par UPLC-MS/MS .....	19
2.7.3	Détermination des concentrations dans les échantillons inconnus .....	20
2.7.4	Limites de quantification.....	20
2.8	DOSAGE DES PESTICIDES ORGANOCHLORÉS ET PCBs.....	21
2.8.1	Préparation de l'échantillon.....	21
2.8.2	Analyse par GC-MS/MS .....	21
2.8.3	Détermination des concentrations dans les échantillons inconnus .....	23
2.8.4	Limites de quantification.....	24
2.9	DOSAGE DES SUBSTANCES PERFLUORÉES (PFAS).....	24
2.9.1	Extraction .....	24
2.9.2	Analyse par LC-MS/MS.....	25
2.9.3	Détermination des concentrations dans les échantillons inconnus .....	26
2.9.4	Limites de quantification.....	26
2.10	RECAPITULATIFS DES SUBSTANCES MESUREES .....	27
3	PLANNING DE LA RÉALISATION DES MESURES .....	29
4	RÉSULTATS DES ANALYSES .....	30
4.1	CONTROLES DE QUALITE INTERNES UTILISES LORS DE LA PHASE 1 .....	31
5	CONTRÔLES DE QUALITÉ EXTERNE ET CERTIFICATION .....	40
5.1	VALIDATION ANALYTIQUE.....	40
5.2	CONTROLES DE QUALITE EXTERNES.....	42
	REFERENCES .....	46

## TABLE DES ACRONYMES

HAPs : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques  
PCBs : Polychlorobiphényles  
BPA : Bisphénol-A  
PFAS : substances perfluorées (perfluoroalkyl substances)  
BPS : Bisphénol-S  
BPF : Bisphénol-F  
BPP : Bisphénol-P  
BPZ : Bisphénol-Z  
GC/MS : : Chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse  
GC-MS/MS : Chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse en tandem  
MSTFA : N-Méthyl-N-(triméthylsilyl)trifluoroacétamide  
KOH : Hydroxyde de potassium  
MRM : Multiple Reaction Monitoring  
LOQ : Limite de quantification  
LOL: Limite de linéarité  
FIMS: Flow Injection Mercury System  
HCl : Acide chlorhydrique  
KMnO<sub>4</sub>:Permanganate de potassium  
KBrO<sub>3</sub>:Bromate de potassium  
KBr : Bromure de potassium  
PI : pour injectable  
1-NAP: 1-naphtol  
2-NAP: 2-naphtol  
2-FLU: 2-hydroxyfluorène  
3-FLU: 3-hydroxyfluorène  
9-FLU: 9-hydroxyfluorène  
1-PHE: 1-hydroxy-phenanthrene  
2-PHE: 2-hydroxy-phenanthrene  
3-PHE: 3-hydroxy-phenanthrene  
4-PHE: 4-hydroxy-phenanthrene  
1-PY: 1-hydroxypyrrène  
3-PBA : acide 3-phenoxybenzoïque  
c-DCCA : acide cis- 3-(2,2-Dichlorovinyl)-2,2-diméthyl-1-Cyclopropane) carboxylique  
t-DCCA : acide trans-3-(2,2-Dichlorovinyl)-2,2-diméthyl-1-Cyclopropane) carboxylique  
4-F-3-PBA : acide 4-Fluoro-3-phenoxybenzoïque  
DBCA : acide cis-2,2-Diméthyl-3-(2,2-dibromovinyl)cyclopropane carboxylique  
MTBSFA : N-tert-Butyldiméthylsilyl-N-méthyltrifluoroacétamide  
NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O: dihydrogénophosphate de sodium monohydraté  
SI : standard interne  
TCPY: 3,5,6-Trichloro-2-pyridinol  
DMTP : diméthylthiophosphate  
DMDTP : diméthyl-dithiophosphate  
DEP : diéthylphosphate  
DETP : diéthylthiophosphate  
DEDTP : diéthyl-dithiophosphate  
PCI : ionisation chimique positive

AMAP : acide aminométhylphosphonique  
HCB : hexachlorobenzène  
FMOC: 9-Fluorenylméthyl chloroformate  
UPLC: Chromatographie en phase liquide à ultrahaute pression  
a-HCH : alpha-hexachlorohexane  
b-HCH: beta- hexachlorohexane  
g-HCH: gamma- hexachlorohexane (lindane)  
2,4-DDT : 2,4'- dichlorodiphényltrichloroéthane  
2,4- et 4,4-DDE : 2,4' et 4,4'- dichlorodiphényldichloroéthylène  
PFHxA : acide perfluorohexanoïque  
PFHpA : acide perfluoroheptanoïque  
PFOA : acide perfluorooctanoïque  
PFNA : acide perfluorononanoïque  
PFDA : acide perfluorodécanoïque  
PFHxS : sulfonate de perfluorohexane  
PFOS : sulfonate de perfluorooctane linéaire  
TG : triglycérides  
CHT : cholestérol total

## 1 INTRODUCTION

---

Le premier programme de Biomonitoring Humain Wallon (BMH-WAL), financé par le Gouvernement Wallon, a démarré en 2019 afin d'obtenir des données de référence sur l'exposition des Wallons à diverses substances polluantes rencontrées dans l'environnement, l'alimentation, l'eau de boisson ou les produits de la vie quotidienne. Les objectifs principaux étaient de déterminer les concentrations de référence spécifiques de la population wallonne, d'identifier des sous-groupes plus particulièrement exposés (en fonction de l'âge, du sexe, du statut tabagique, etc.), et de comparer les niveaux d'exposition de la population wallonne aux autres pays de niveau socio-économique similaire. La mise en évidence de sources d'exposition pourrait également être envisagée par la suite en cherchant des liens statistiques entre niveaux d'imprégnation et statut socio-économique des participants, lieu de résidence, ou certaines habitudes de vie.

Les substances ciblées sont des métaux et éléments traces, des plastifiants (bisphénols), des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), plusieurs familles de pesticides, des polychlorobiphényles (PCBs) et des substances perfluorées (PFAS).

La phase 1 de ce programme s'était focalisée sur une population de nouveau-nés, d'adolescents (12-19 ans) et de jeunes adultes (20-39 ans), recrutés entre décembre 2019 et juillet 2020. La phase 2 s'était concentrée sur une population d'enfants de 3 à 5 ans et de 6 à 11 ans, recrutés entre décembre 2020 et juin 2021.

Cette troisième phase concerne la catégorie d'âge adulte de 40-59 ans, permettant ainsi à la Wallonie de disposer de valeurs de référence pour l'ensemble de la population de 3 à 59 ans, ainsi que les nouveau-nés. Le recrutement et la collecte des échantillons se sont déroulés entre avril et juin 2023.

Le présent rapport décrit les méthodes analytiques utilisées, le planning de la réalisation des mesures, et les mesures d'Assurance Qualité (concentrations des différents contrôles internes utilisés, description des méthodes de validation, participation aux programmes de contrôles de qualité externes).

## 2 DESCRIPTION DES MÉTHODES ANALYTIQUES

### 2.1 DOSAGE DES BISPHÉNOLS

Le dosage du bisphénol-A (BPA), bisphénol-S (BPS), bisphénol-F (BPF), bisphénol-P (BPP) et bisphénol-Z (BPZ) a été réalisé dans l'urine après hydrolyse enzymatique. Les composés subissent une première étape d'extraction en phase solide, suivie d'une extraction liquide-liquide, d'une étape de dérivation, avant d'être injectés en GC-MS/MS. Cette méthode est décrite en détail dans Pirard et al., 2022.

#### 2.1.1 Extraction

Trois millilitres d'échantillon d'urine sont hydrolysés une nuit à 40°C au moyen de 25 µL de β-glucuronidase, 25 µL de sulfatase, 750 µL de tampon acétate de sodium 1M ajusté à pH=5 et 20 µL de standard interne. L'échantillon est ensuite mis au bain à ultrason 15 minutes en présence de 200 µL d'acide formique. Après centrifugation (5 min à 3000 rpm), il est passé sur une cartouche SPE Oasis HLB préalablement conditionnée avec 3 mL de dichlorométhane, 2x3 ml de méthanol, et 2x2mL d'eau LC-MS. La cartouche est lavée par 3 mL d'eau LC/MS, séchée par centrifugation (5 minutes à 5000 rpm), et éluée par 2x2.5 mL d'un mélange de méthanol et dichlorométhane (v/v 1/1). L'éluat est évaporé à sec à 30°C sous un léger flux d'azote, et repris par 1 mL d'eau LC/MS et 50 µL de KOH. Les composés sont alors extraits par 3 mL d'acétate d'éthyle après 10 minutes d'agitation et 5 minutes de centrifugation à 5000 rpm. La phase organique est évaporée à sec à 30°C sous un léger flux d'azote, reprise par 30 µL d'acétate d'éthyle et 20 µL de MSTFA, et transférée dans un vial avec réducteur pour GC/MS.

#### 2.1.2 Analyse par GC-MS/MS

La détermination finale est réalisée par GC-MS/MS sur un GC 7890A (GC System Agilent Technologies) couplé à un spectromètre de masse 7000A GC/MS Triple Quad (Agilent Technologies), équipé d'une colonne capillaire HP-5MS (30 m×0.25 mm i.d.×0.25 µm), traversée par de l'Helium (He N60, Air Liquide) à un débit constant de 1.2 ml/min.

#### *Programme GC*

- Injection : splitless
- Température d'injection : 250°C
- Pression d'injection (surge pressure): 50 psi
- Volume d'injection: 1µL
- Gaz vecteur : hélium
- Température de la ligne de transfert : 250°C

	Rampe t° (°C/min)	Température (°C)	Temps de maintient (min)
Température initiale (°C)		70	1,25
Rampe 1	75	210	0
Rampe 2	7	250	0
Rampe 3	20	325	3

### Programme MS/MS

- Ionisation : impact électronique (70eV)
- Température de la source : 230°C
- Température des quadripôles : 150°C
- Mode d'acquisition : MRM

Nom	Ions parents (m/z)	Ions fils (m/z)	Energie de collision (eV)
BPF	343.9	73	36
	<b>343.9</b>	<b>179</b>	<b>22</b>
BPA-d14	<b>368</b>	<b>73</b>	<b>39</b>
	368	197	26
BPA	356,9	73	39
	<b>356.9</b>	<b>191.1</b>	<b>21</b>
BPZ	368.9	73	32
	<b>368.9</b>	<b>203</b>	<b>14</b>
BPS-d8	<b>401.7</b>	<b>73</b>	<b>39</b>
	386,7	73	36
BPS	394	73	39
	<b>379</b>	<b>73</b>	<b>34</b>
BPP	<b>474.9</b>	<b>207.1</b>	<b>26</b>
	474.9	73	39

Les transitions en gras sont utilisées pour la quantification

#### 2.1.3 Détermination des concentrations dans les échantillons inconnus

La quantification est réalisée par dilution isotopique en utilisant l'isotope BPS-d8 pour le BPS, et le BPA-d14 pour tous les autres bisphénols.

La courbe de calibration est constituée de 8 points, et construite dans de l'eau LC/MS fortifiée à des concentrations croissantes allant de 0.05 à 10 µg/L pour le BPF, BPS, BPZ et BPP, et de 0.25 à 50 µg/L pour le BPA. Ces points de calibration sont extraits comme des échantillons réels. Chaque séquence inclut la courbe de calibration, un blanc réactif (eau LC/MS), 2 contrôles de qualité maison (eau LC/MS fortifiée à 0.75 et 15 µg/L pour le BPA, et 0.15 et 3 µg/L pour tous les autres bisphénols), 2 matériels provenant d'anciens programmes de Contrôles Externes (1 G EQUAS 14/15A ou 14/15B organisé par the Institute and Out-Patient Clinic for Occupational, Social and Environmental Medicine of the University Erlangen-Nuremberg ; et 1 OSEQAS provenant de l'Institut National de Santé Publique du Québec – INSPQ), et 30 échantillons inconnus.

#### 2.1.4 Limites de quantification

Nom	LOQ ( $\mu\text{g/L}$ )	LOL ( $\mu\text{g/L}$ )
BPS	0.09	10.00
BPF	0.07	10.00
BPA	0.29	10.00
BPZ	0.06	10.00
BPP	0.09	10.00

## 2.2 DOSAGE DU MERCURE

Le dosage quantitatif du mercure dans l'urine est réalisé en oxydant l'échantillon par un réactif bromate-bromure (décomposition des composés mercure organiques), avant analyse sur un FIMS (Flow Injection Mercury System).

### 2.2.1 Préparation de l'échantillon

Après centrifugation (5 minutes à 3000 rpm), 500 µL d'HCl concentré (37%), 200 µL d'un mélange bromate-bromure de potassium (2g de KBr, 0,56 g de KBrO<sub>3</sub> et 25 ml d'eau), et 50 µL d'une solution triton (diluée 100 fois dans l'eau) sont ajoutés à 5 mL d'urine.

### 2.2.2 Analyse par FIMS

L'échantillon est ensuite analysé par un FIMS-400 qui consiste en un spectromètre à absorption atomique (lampe à mercure paramétrée à 253.7 nm) couplé à un système d'injection FIAS-400 et un Autosampler S10 (Perkin-Elmer). Le volume de la boucle est de 500 µL, et le diamètre intérieur des tubes de la pompe péristaltique est de 1,52 mm pour l'échantillon et le réactif vecteur (acide chlorhydrique 1,2 M) et 1,14 mm pour le KMnO<sub>4</sub> et le borohydrure de sodium. Les autres paramètres du FIMS sont tels que détaillés par Guo et Baasner 1993<sup>1</sup>.

### 2.2.3 Détermination des concentrations dans les échantillons inconnus

Chaque séquence d'échantillons inclut une courbe de calibration de 7 points constituée d'eau PI fortifiée à des concentrations allant de 0.25 à 10 µg/L, un blanc réactif (eau PI), 2 contrôles de qualité maison (eau PI fortifiée à 2.5 et 7.5 µg/L), 1 matériel provenant d'anciens programmes de Contrôles Externes G EQUAS 8B (Institute and Out-Patient Clinic for Occupational, Social and Environmental Medicine of the University Erlangen-Nuremberg), et de maximum 20 échantillons inconnus.

### 2.2.4 Limites de quantification

LOQ = 0.25 µg/L

---

<sup>1</sup> Guo T, Baasner J. Determination of mercury in urine by flow-injection cold vapor atomic absorption spectrometry. *Anal Chim Acta* 1993; 278:189–96

## 2.3 DOSAGE DE MÉTABOLITES D'HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES (HAPs)

Le dosage des 1- et 2-naphtols (métabolites du naphthalène), des 2-, 3-, et 9- hydroxyfluorènes (métabolites du fluorène), des 1-, 2-, 3-,et 4-hydroxyphénanthrènes (métabolites du phénanthrène), et du 1-hydroxypyrene (métabolites du pyrène) dans l'urine est réalisé par extraction liquide-liquide après hydrolyse enzymatique, dérivation au MSTFA et injection en GC-MS/MS.

### 2.3.1 Préparation de l'échantillon

Un millilitre d'urine est hydrolysé une nuit à 40°C en présence d'1 mL tampon acétate de sodium 0.1M (pH ajusté à 5), de 20 µL de sulfatase, 20 µL de β-glucuronidase, et 40 µL de standard interne. L'échantillon hydrolysé est ensuite dilué par 3 mL d'eau ultrapure, puis extrait deux fois par 5 mL d'un mélange pentane-toluène (v/v 80/20). Les 2 phases organiques recueillies après agitation (vortex 10 minutes à 2500 rpm) et centrifugation (5 minutes à 5000 rpm) sont rassemblées, évaporées à sec à 40°C maximum sous un léger flux d'azote, reprises par 30 µL de toluène et 10 µL de MSTFA, transférées dans un vial avec réducteur pour GC/MS, et mises 1/2h à 60°C pour optimiser la réaction de dérivation.

### 2.3.2 Analyse par GC-MS/MS

La détermination finale est réalisée par GC-MS/MS sur un GC 7890A (GC System Agilent Technologies) couplé à un spectromètre de masse 7000A GC/MS Triple Quad (Agilent Technologies), équipé d'une colonne capillaire HP-5MS (30 m×0.25 mm i.d.×0.25 µm), traversée par de l'Helium (He N60, Air Liquide) à un débit constant de 1.2 ml/min.

#### Programme GC

- Injection : splitless
- Température d'injection : 270°C
- Pression d'injection (surge pressure): 30 psi
- Volume d'injection: 2µL
- Gaz vecteur : hélium
- Température de la ligne de transfert : 230°C

	Rampe t° (°C/min)	Température (°C)	Temps de maintient (min)
Température initiale (°C)		95	1
Rampe 1	30	195	0
Rampe 2	2	201	0
Rampe 3	10	230	5
Rampe 4	30	325	2

## Programme MS/MS

- Ionisation : impact électronique (70eV)
- Température de la source : 230°C
- Température des quadripôles : 150°C
- Mode d'acquisition : MRM

Nom	Ions parents (m/z)	Ions fils (m/z)	Energie de collision (eV)
1-NAP	<b>216.0</b>	<b>185</b>	<b>25</b>
	216.0	73	20
2-NAP	<b>216.0</b>	<b>185</b>	<b>25</b>
	216.0	73	20
2-NAP D7	<b>223.0</b>	<b>191.1</b>	<b>25</b>
9-FLU	<b>254.0</b>	<b>165.1</b>	<b>25</b>
	254.0	239.1	12
3-FLU	<b>254.0</b>	<b>165.1</b>	<b>25</b>
	254.0	239.1	12
2-FLU	<b>254.0</b>	<b>165.1</b>	<b>25</b>
	254.0	239.1	12
4-PHE	<b>234.9</b>	<b>220.0</b>	<b>25</b>
	266.0	73.0	25
4-PHE D9	<b>260.1</b>	<b>243.1</b>	<b>15</b>
3-PHE	<b>266.0</b>	<b>235.2</b>	<b>25</b>
	266.0	73.0	25
1-PHE	<b>266.0</b>	<b>235.2</b>	<b>25</b>
	266.0	73.0	25
2-PHE	<b>266.0</b>	<b>235.2</b>	<b>25</b>
	266.0	73.0	25
1-PY	<b>290.0</b>	<b>259.0</b>	<b>25</b>
1-PY D9	<b>299.0</b>	<b>267.0</b>	<b>25</b>

Les transitions en gras sont utilisées pour la quantification

### 2.3.3 Détermination des concentrations dans les échantillons inconnus

La quantification des métabolites de HAPs est faite par dilution isotopique en utilisant l'isotope 2-NAP D7 pour les 1- et 2-NAP, le 4-PHE D9 pour les 2-, 3-, 9-FLU et les 1-, 2-, 3-, et 4-PHE, et le 1-PY D9 pour le 1-PY.

La courbe de calibration est constituée de 7 points, et construite dans de l'urine synthétique fortifiée à des concentrations croissantes allant de 0.2 à 120 µg/L pour les 1- et 2NAP, et de 0.05 à 30 µg/L pour les autres métabolites de HAPs. Ces points de calibration sont extraits comme des échantillons réels. Chaque séquence inclut la courbe de calibration, un blanc réactif (urine synthétique), 2 contrôles de qualité maison (urine synthétique enrichie à 3 et 16 µg/L pour les 1- et 2-NAP, et à 0.75 et 3 µg/L pour les autres métabolites de HAPs), 2 matériels

provenant d'anciens programmes de Contrôles Externes (2 G EQUAS 14/15 A et 14/15B organisés par the Institute and Out-Patient Clinic for Occupational, Social and Environmental Medicine of the University Erlangen-Nuremberg ; et 1 OSEQAS provenant de l'Institut National de Santé Publique du Québec – INSPQ), et 30 à 40 échantillons inconnus maximum.

#### 2.3.4 Limites de quantification

Nom	LOQ (µg/L)	LOL (µg/L)
1-NAP	0.4	120
2-NAP	0.4	120
2-FLU	0.10	30
3-FLU	0.10	30
9-FLU	0.10	29
1-PHE	0.10	30
2-PHE	0.10	30
3-PHE	0.10	30
4-PHE	0.10	30
1-PY	0.15	30

## 2.4 DOSAGE DE MÉTABOLITES DE PESTICIDES PYRÉTHRINOÏDES

L'acide 3-phenoxybenzoïque (3-PBA), les acides cis- et trans- 3-(2,2-Dichlorovinyl)-2,2-diméthyl-1-Cyclopropane) carboxyliques (c- et t-DCCA), métabolites communs à plusieurs pesticides pyréthrinoïdes, ainsi que l'acide 4-Fluoro-3-phenoxybenzoïque (4-F-3-PBA), métabolite spécifique de la cyfluthrine et l'acide cis-2,2-Diméthyl-3-(2,2-dibromovinyl)cyclopropane carboxylique (DBCA), métabolite spécifique de la cis-deltaméthrine sont dosés dans l'urine par extraction liquide-liquide après hydrolyse enzymatique et GC-MS/MS des produits dérivés au MTBSFA. Cette méthode a été décrite dans Pirard et al., 2020.

### 2.4.1 Préparation de l'échantillon

L'échantillon d'urine (3 mL) est préalablement hydrolysé une nuit à 40°C en présence de 2 mL de tampon acétate de sodium 0.1M (pH ajusté à 5), de 20 µL de Sulfatase, 20 µL de β-glucuronidase et de 20 µL de SI à 1 µg/mL. Après refroidissement de l'échantillon, 2 mL de tampon NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O 0.2M (pH 7.4) et 4 mL de diéther sont ajoutés, et l'ensemble est vortexé pendant 5 minutes à 2500 rpm et centrifugé 5 minutes à 3000 rpm. La phase organique est recueillie, évaporée sous un faible flux d'azote à 30°C, reprise par 50 µL de toluène et 10 µL de MTBSFA avant d'être transférées dans un vial avec réducteur, et laissée 1/2h à 70°C avant l'injection en GC-MS/MS.

### 2.4.2 Analyse par GC-MS/MS

La détermination finale est réalisée par GC-MS/MS sur un GC 7890A (GC System Agilent Technologies) couplé à un spectromètre de masse 7000A GC/MS Triple Quad (Agilent Technologies), équipé d'une colonne capillaire HP-5MS (30 m×0.25 mm i.d.×0.25 µm), traversée par de l'Helium (He N60, Air Liquide) à un débit constant de 1.2 ml/min.

#### *Programme GC*

- Injection : splitless
- Température d'injection : 250°C
- Pression d'injection (surge pressure): 30 psi
- Volume d'injection: 2µL
- Gaz vecteur : hélium
- Température de la ligne de transfert : 230°C

	Rampe t° (°C/min)	Température (°C)	Temps de maintient (min)
Température initiale (°C)		80	1
Rampe 1	50	200	0
Rampe 2	2	219	0
Rampe 3	100	325	3

## Programme MS/MS

- Ionisation : impact électronique (70eV)
- Température de la source : 230°C
- Température des quadripôles : 150°C
- Mode d'acquisition : MRM

Nom	Ions parents (m/z)	Ions fils (m/z)	Energie de collision (eV)
C-DCCA	<b>264.7</b>	<b>91</b>	<b>35</b>
	266.6	91	35
T-DCCA	<b>264.7</b>	<b>91</b>	<b>35</b>
	266.6	91	35
T-DCCA 13C	<b>267.8</b>	<b>93</b>	<b>35</b>
	269.0	93	35
TCPY	<b>253.8</b>	<b>93</b>	<b>20</b>
	255.6	93	20
TCPY 13C	<b>256.8</b>	<b>93</b>	<b>20</b>
	258.8	93	20
DBCA	<b>354.7</b>	<b>92.8</b>	<b>35</b>
	352.7	92.8	35
4-F-3-PBA	<b>288.6</b>	<b>215</b>	<b>20</b>
	288.6	245	15
3-PBA	<b>270.6</b>	<b>197</b>	<b>15</b>
	270.6	227	15
3-PBA 13C	<b>276.8</b>	<b>233</b>	<b>15</b>
	270.6	227	15

Les transitions en gras sont utilisées pour la quantification

### 2.4.3 Détermination des concentrations dans les échantillons inconnus

La quantification des métabolites de pesticides pyréthrinoïdes est faite par dilution isotopique en utilisant l'isotope t-DCCA 13C pour les c- et t-DCCA et le DBCA, et le 3-PBA 13C pour le 3-PBA et le 4-F-3-PBA.

La courbe de calibration est constituée de 7 points, et construite dans de l'urine synthétique fortifiée à des concentrations croissantes allant de 0.1 à 20 µg/L. Ces points de calibration sont extraits comme des échantillons réels. Chaque séquence inclut la courbe de calibration, un blanc réactif (urine synthétique), 2 matériels provenant d'anciens programmes de Contrôles Externes (2 G EQUAS 9A et 9B organisés par the Institute and Out-Patient Clinic for Occupational, Social and Environmental Medicine of the University Erlangen-Nuremberg), et 30 à 40 échantillons inconnus maximum.

#### 2.4.4 Limites de quantification

Nom	LOQ ( $\mu\text{g/L}$ )	LOL ( $\mu\text{g/L}$ )
c-DCCA	0.15	20
t-DCCA	0.20	20
DBCA	0.30	20
4-F-3-PBA	0.11	20
3-PBA	0.09	20

### 2.5 DOSAGE DE MÉTABOLITES DE PESTICIDES ORGANOPHOSPHORÉS SPÉCIFIQUES

Le 3,5,6-Trichloro-2-pyridinol (TCPY) est un métabolite spécifique du pesticide organophosphoré chlorpyrifos. De par ses propriétés physico-chimiques, il est dosé avec les métabolites de pesticides pyréthrinoïdes.

#### 2.5.1 Préparation de l'échantillon

Voir 2.4.1. Préparation de l'échantillon du dosage de métabolites de pesticides pyréthrinoïdes

#### 2.5.2 Analyse par GC-MS/MS

Voir 2.4.2. Analyse par GC-MS/MS du dosage de métabolites de pesticides pyréthrinoïdes

#### 2.5.3 Détermination des concentrations dans les échantillons inconnus

Le TCPY est quantifié par dilution isotopique en utilisant l'isotope TCPY 13C.

La courbe de calibration est constituée de 7 points, et construite dans de l'urine synthétique fortifiée à des concentrations croissantes allant de 0.1 à 20  $\mu\text{g/L}$ . Ces points de calibration sont extraits comme des échantillons réels. Chaque séquence inclut la courbe de calibration, un blanc réactif (urine synthétique), 2 contrôles de qualité maison (urine synthétique enrichie à 1.5 et 15  $\mu\text{g/L}$ ), 1 matériel provenant d'anciens programmes de Contrôles Externes (G EQUAS 14/15A ou 4/15B organisé par the Institute and Out-Patient Clinic for Occupational, Social and Environmental Medicine of the University Erlangen-Nuremberg), et 30 à 40 échantillons inconnus maximum.

#### 2.5.4 Limites de quantification

LOQ = 0.08  $\mu\text{g/L}$

## 2.6 DOSAGE DE MÉTABOLITES DE PESTICIDES ORGANOPHOSPHORÉS NON-SPÉCIFIQUES

Le dosage des dialkylphosphates (diéthylphosphate, diéthylthiophosphate, diéthylidithiophosphate, diméthylthiophosphate, diméthylidithiophosphate), métabolites communs à plusieurs pesticides organophosphorés est réalisé dans l'urine par extraction en phase solide et dérivation au chloro-iodopropane avant injection en GC-MS/MS en ionisation chimique positive (PCI). Les détails analytiques ont été publiés dans Pirard et al., 2020.

### 2.6.1 Préparation de l'échantillon

Trois millilitres d'urine sont hydrolysés par 300 µL de HCl 3M après ajout de 50 µL de SI (1 µg/mL). L'hydrolyzat est ensuite chargé sur une cartouche Oasis WAX 3cc préalablement conditionnée par 3 mL de méthanol et 2x3 mL d'eau. La cartouche est ensuite lavée par 3 mL d'une solution d'acide formique 2% et 3 mL de méthanol, avant d'être éluée par 2x3 mL d'une solution d'ammoniac à 5% dans du méthanol. L'extrait est évaporé à 40°C sous un faible flux d'azote, repris par 1 mL d'acétonitrile, et dérivé par 50 µL de chloro-iodopropane en présence de 50 mg de carbonate de potassium pendant 2h à 65°C. Le surnageant est ensuite évaporé

### 2.6.2 Analyse par GC-MS/MS

La détermination finale est réalisée par GC-MS/MS sur un GC 7890A (GC System Agilent Technologies) couplé à un spectromètre de masse 7000A GC/MS Triple Quad (Agilent Technologies), équipé d'une colonne capillaire HP-5MS (30 m×0.25 mm i.d.×0.25 µm), traversée par de l'Helium (He N60, Air Liquide) à un débit constant de 1.2 ml/min.

#### *Programme GC*

- Injection : splitless
- Température d'injection : 250°C
- Pression d'injection (surge pressure): 22 psi
- Volume d'injection: 2µL
- Gaz vecteur : hélium
- Température de la ligne de transfert : 280°C

	Rampe t° (°C/min)	Température (°C)	Temps de maintient (min)
Température initiale (°C)		140	1
Rampe 1	7	200	0
Rampe 2	100	325	2

#### *Programme MS/MS*

- Ionisation : Ionisation chimique positive (PCI)
- Température de la source : 250°C
- Température des quadripôles : 150°C
- Mode d'acquisition : MRM

Nom	ions parents (m/z)	ions fils (m/z)	Energie de collision (eV)
DEP	<b>230.9</b>	<b>98.7</b>	<b>25</b>
	233.0	98.7	25
DEP D10	<b>240.9</b>	<b>101.0</b>	<b>25</b>
	243.0	101.0	25
DMTP	<b>219.0</b>	<b>142.9</b>	<b>12</b>
	221.0	142.9	12
DMTP D6	<b>224.9</b>	<b>148.8</b>	<b>12</b>
	227.0	148.8	12
DETP	<b>246.9</b>	<b>190.9</b>	<b>15</b>
	248.9	192.8	15
DETP D10	<b>258.9</b>	<b>194.5</b>	<b>15</b>
	256.9	192.9	15
DMDTP	<b>234.9</b>	<b>124.9</b>	<b>15</b>
	236.9	124.9	15
DMDTP D6	<b>242.9</b>	<b>130.9</b>	<b>15</b>
	240.9	131.0	15
DEDTP	<b>262.9</b>	<b>96.8</b>	<b>28</b>
	264.0	96.8	28
DEDTP D10	<b>274.9</b>	<b>98.9</b>	<b>28</b>
	272.9	98.9	28

Les transitions en gras sont utilisées pour la quantification

### 2.6.3 Détermination des concentrations dans les échantillons inconnus

La quantification des métabolites de pesticides organophosphorés est faite par dilution isotopique en utilisant pour chacun des métabolites leur homologue deutéré.

La courbe de calibration est constituée de 6 points, et construite dans de l'urine synthétique fortifiée à des concentrations croissantes allant de 0.5 à 100 µg/L. Ces points de calibration sont extraits comme des échantillons réels. Chaque séquence inclut la courbe de calibration, un blanc réactif (urine synthétique), 2 matériels provenant d'anciens programmes de Contrôles Externes (2 G EQUAS 9A et 9B organisés par the Institute and Out-Patient Clinic for Occupational, Social and Environmental Medicine of the University Erlangen-Nuremberg), et 30 à 40 échantillons inconnus maximum.

### 2.6.4 Limites de quantification

Nom	LOQ (µg/L)	LOL (µg/L)
DEP	0.5	100
DETP	0.5	100
DEDTP	0.5	100
DMTP	0.5	100
DMDTP	0.5	100

## 2.7 DOSAGE DU GLYPHOSATE

Le dosage du glyphosate et de l'AMPA est réalisé dans l'urine. Les composés subissent une première étape de dérivation au FMOC pendant une nuit, avant d'être extraits par un solvant organique et d'être injectés en UPLC-MS/MS.

### 2.7.1 Préparation de l'échantillon

Un millilitre d'urine est dérivé une nuit à température ambiante et à l'abri de la lumière par 3 mL de FMOC à 20 g/L (dissout dans de l'acétone), en présence de 1 mL de tampon di-sodium tetraborate décahydraté 5% et 50 µL de standard interne. Après évaporation de l'acétone à 30°C sous un faible flux d'azote, une première extraction liquide-liquide est réalisée avec 5 mL d'acétate d'éthyle (agitation pendant 10 minutes, centrifugation à 2500 rpm). La phase organique est écartée, et 100 µL d'acide chlorhydrique concentré sont ajoutés à la phase aqueuse qui est ensuite extraite par 2 fois 5 mL de diéthylether. Les deux phases organiques sont rassemblées, évaporées à 30°C sous un faible flux d'azote, reprises par 100 µL d'une solution 80/20 d'acétate d'ammonium dans l'eau pH 4.8/acétonitrile, et transférées dans un vial avec réducteur pour UPLC/MS.

### 2.7.2 Analyse par UPLC-MS/MS

Les extraits sont injectés sur un système UHPLC Acquity (Waters) équipé d'une colonne Acquity BEH C18 de 50 mm, et couplé à un spectromètre de masse Xevo TQ-S opérant en electrospray positif (ESI+).

#### *Programme LC*

- Colonne : Acquity BEH C18 50 x 2.1 mm, 1.7 µm
- Température de la colonne : 40°C
- Volume d'injection : 10 µL
- Phase mobile A : acétate d'ammonium 5 mM pH 4.8
- Phase mobile B : Acétonitrile

	<b>Temps (min)</b>	<b>Débit (ml/min)</b>	<b>Composition A (%)</b>	<b>Composition B (%)</b>
Initiale		0.400	90	10
Rampe 1	1.00	0.400	90	10
Rampe 2	5.00	0.400	75	25
Rampe 3	5.50	0.400	0	100
Rampe 4	6.50	0.400	0	100
Rampe 5	6.65	0.400	90	10
Rampe 6	8.00	0.400	90	10

## Programme MS/MS

- Mode d'ionisation : électrospray positif (ES+)
- Voltage du capillaire : 3 kV
- Température de la source : 150°C
- Température de désolvatation : 350°C
- Débit du gaz de désolvatation (N<sub>2</sub>) : 800 l/h
- Débit du gaz de collision : 0.15 ml/min
- Mode d'acquisition : MRM

Plage	Composé	Ion précurseur (m/z)	Ions produits (m/z)	Voltage du cône (V)	Énergie de collision (eV)	Dwell time (s)
2.0 – 6.5 min	Glyphosate	392.0	<b>87.6</b>	21	20	0.15
			213.8	21	10	0.15
	Glyphosate -1,2- <sup>13</sup> C <sub>2</sub> <sup>15</sup> N	395.0	<b>118.9</b>	21	20	0.15
			268.9	21	10	0.15
	AMPA	334.0	<b>178.8</b>	21	20	0.1
			116.0	21	8	0.1
AMPA <sup>13</sup> C <sup>15</sup> N <sup>2</sup> D	338.0	<b>178.8</b>	21	20	0.1	

Les transitions en gras sont utilisées pour la quantification

### 2.7.3 Détermination des concentrations dans les échantillons inconnus

La quantification du glyphosate et de l'AMPA est faite par dilution isotopique en utilisant respectivement le Glyphosate -1,2-<sup>13</sup>C<sub>2</sub><sup>15</sup>N et l'AMPA <sup>13</sup>C<sup>15</sup>N<sup>2</sup>D.

La courbe de calibration est constituée de 6 points, et construite dans de l'urine synthétique fortifiée à des concentrations croissantes allant de 0.05 à 10 µg/L pour le glyphosate, et de 0.1 à 20 µg/L pour l'AMPA. Ces points de calibration sont extraits comme des échantillons réels. Chaque séquence inclut la courbe de calibration, un blanc réactif (urine synthétique), un contrôle de qualité maison (urine synthétique enrichie à 2 et 4 µg/L pour le glyphosate et l'AMPA respectivement), 2 matériels provenant d'anciens programmes de Contrôles Externes (2 G EQUAS 9A et 9B organisés par the Institute and Out-Patient Clinic for Occupational, Social and Environmental Medicine of the University Erlangen-Nuremberg), et 40 à 50 échantillons inconnus.

### 2.7.4 Limites de quantification

Glyphosate : 0.08 µg/L

AMPA : 0.15 µg/L

## 2.8 DOSAGE DES PESTICIDES ORGANOCHLORÉS ET PCBs

Le dosage de plusieurs pesticides organochlorés - l'hexachlorobenzène, l'alpha-HCH, le beta-HCH, le lindane, l'aldrine, l'heptachlore époxyde, l'oxychlordane, le 2,4-DDT, le 2,4- et 4,4-DDE, le trans-chlordane, le cis- et trans-nonachlor, la dieldrine, l'endrine, l'endosulfan II et de plusieurs PCBs – les PCBs 118, 138, 153, 180 - dans le sérum est réalisé par déprotéinisation du sérum par ajout d'acétonitrile, puis extraction liquide-liquide en milieu basique, suivie d'une extraction en phase solide sur colonne Bond Elut Certify et détermination en GC-MS/MS, en ionisation chimique négative (NCI) pour les pesticides organochlorés, en impact électronique (EI) pour les PCBs. La méthode analytique est détaillée dans Pirard et al., 2018.

### 2.8.1 Préparation de l'échantillon

L'échantillon de sérum (500 µL) est laissé équilibrer 1h avec le standard interne sous agitation (2500 tour/min), avant d'être déprotéiné par 500 µL d'acétonitrile et 500 µL d'une solution de carbonate de potassium saturée, et extrait par 2 fois 5 mL d'un mélange hexane/acétone (9/1 v/v) (agitation 10 min à 2500 tour/min). Les deux phases organiques successives sont collectées après centrifugation 5 min à 300 rpm, et déposée sur une cartouche SPE Bond Elut Certify (Agilent) préalablement conditionnée par 3 ml de méthanol et 3 mL d'un mélange hexane/acétone (9/1 v/v) et surmontée d'1 cm de sulfate de sodium anhydre. Le solvant élué est directement collecté, évaporé à 40°C sous un faible flux d'azote jusque 500 µL, transféré dans un vial silanisé contenant 50 µL de nonane, et laissé évaporé à température ambiante une nuit jusque 50 µL.

### 2.8.2 Analyse par GC-MS/MS

La détermination finale est réalisée par GC-MS sur un GC 7890A couplé à un spectromètre de masse 7000A GC/MS Triple Quad (Agilent Technologies), équipé de 2 colonnes Restek Rxi-17SIL (1.5m x 0.25mm ID x 0.25 µm) et Rxi-XLB (30m x 0.25mm ID x 0.25 µm) reliées entre elles par un connecteur press-fit (0.25x0.25 mm ID), avec un débit constant de 1.4 ml/min d'He (He N60, Air Liquide). Les extraits sont injectés deux fois : en mode NCI pour les pesticides organochlorés, en EI pour les PCBs.

#### **Pesticides organochlorés :**

##### *Programme GC*

- Injection : splitless
- Température d'injection : 230°C
- Pression d'injection (surge pressure): 30 psi
- Volume d'injection: 2 µL
- Gaz vecteur : hélium
- Température de la ligne de transfert : 230°C

	Rampe t° (°C/min)	Température (°C)	Temps de maintient (min)
Température initiale (°C)		140	1.5
Rampe 1	60	180	0
Rampe 2	5	230	0
Rampe 3	1	238	0
Rampe 4	30	260	0
Rampe 5	50	300	2

*Programme MS/MS*

- Ionisation : Ionisation chimique négative (NCI)
- Température de la source : 150°C
- Température des quadripôles : 150°C
- Mode d'acquisition : SIM

	Quantification ion (m/z)	Qualification ions (m/z)	
Alpha-HCH d6	70.1	71.1	
Alpha-HCH	71.1	73.2	
HCB <sup>13</sup> C <sub>6</sub>	293.7	291.9	
HCB	283.9	281.9	285.9
Gamma-HCH d6	70.1	71.1	
Gamma-HCH	71.1	73.2	
Beta-HCH	71.1	73.2	
Aldrin <sup>13</sup> C <sub>12</sub>	241.9	243.9	
Aldrin	234.9	236.9	238.9
Oxychlorane <sup>13</sup> C <sub>10</sub>	241.9	309.8	
Oxychlorane	236.9	297.8	301.9
Trans-heptachlor epoxide <sup>13</sup> C <sub>10</sub>	241.9	243.9	
Trans-heptachlor epoxide	236.9	234.9	231.9
Trans-chlordane <sup>13</sup> C <sub>10</sub>	419.9	275.9	
Trans-chlordane	265.9	407.9	409.9
Trans-nonachlor <sup>13</sup> C <sub>10</sub>	453.8	241.9	
Trans-nonachlor	443.8	441.8	445.8
4,4'-DDE d8	288.9	290.9	
4,4'-DDE	282.8	278.8	280.8
Dieldrin <sup>13</sup> C <sub>12</sub>	241.9	243.9	
Dieldrin	236.9	234.9	238.9
Endrin <sup>13</sup> C <sub>12</sub>	241.8	239.8	
Endrin	236.9	234.9	271.8
Cis-nonachlor <sup>13</sup> C <sub>10</sub>	454.0	451.7	
Cis-nonachlor	443.9	441.9	445.9
Beta-endosulfan d4	409.8	411.7	
Beta-endosulfan	405.8	407.9	403.9

## PCBs :

### Programme GC

- Injection : splitless
- Température d'injection : 230°C
- Pression d'injection (surge pressure): 30 psi
- Volume d'injection: 2 µL
- Gaz vecteur : hélium
- Température de la ligne de transfert : 230°C

	Rampe t° (°C/min)	Température (°C)	Temps de maintient (min)
Température initiale (°C)		140	1
Rampe 1	60	200	0
Rampe 2	20	290	0
Rampe 3	2	300	1

### Programme MS/MS

- Ionisation : Ionisation impact électronique (EI)
- Température de la source : 230°C
- Température des quadripôles : 150°C
- Mode d'acquisition : MRM

Nom	Ions parents (m/z)	Ions fils (m/z)	Energie de collision (eV)
PCB-118	<b>325.3</b>	<b>256</b>	<b>35</b>
	327.3	256	35
PCB-118 <sup>13</sup> C <sub>12</sub>	<b>337.3</b>	<b>267.9</b>	<b>35</b>
PCB-138	<b>359.8</b>	<b>289.9</b>	<b>35</b>
	359.8	287.8	35
PCB-138 <sup>13</sup> C <sub>12</sub>	<b>371.3</b>	<b>301.9</b>	<b>35</b>
PCB-153	<b>359.8</b>	<b>289.9</b>	<b>35</b>
	359.8	287.8	35
PCB-153 <sup>13</sup> C <sub>12</sub>	<b>371.3</b>	<b>301.9</b>	<b>35</b>
PCB-180	<b>393.3</b>	<b>323.9</b>	<b>35</b>
	395.2	232.9	35
PCB-180 <sup>13</sup> C <sub>12</sub>	<b>405.4</b>	<b>335.9</b>	<b>35</b>

### 2.8.3 Détermination des concentrations dans les échantillons inconnus

Chaque organochloré est quantifié avec son homologue deutéré ou marqué au <sup>13</sup>C, à l'exception du beta-HCH pour lequel le gamma-HCH D6 est utilisé. La courbe de calibration est

réalisée au moyen de 8 solutions standards de concentrations croissantes (correspondant à des concentrations sériques allant de 0.05 à 8 µg/L). Chaque série d'échantillons comprend la droite non extraite, 2 contrôles de qualité maison (sérum enrichi à 0.5 et 2 µg/L), un blanc sérum (du sérum utilisé pour les QC), 1 matériel provenant d'anciens programmes de Contrôles Externes (AMAP provenant de l'Institut National de Santé Publique du Québec – INSPQ), et jusque 40 échantillons inconnus.

#### 2.8.4 Limites de quantification

Composé	LOQ (µg/L)	LOL (µg/L)
a-HCH	0.05	8.0
Hexachlorobenzène	0.08	8.0
b-HCH	0.05	5.0
g-HCH	0.05	8.0
Aldrine	0.13	8.0
HeptachloreEpoxyde	0.20	3.2
Oxychlordane	0.15	8.0
2,4-DDE	0.08	8.0
trans-Chlordane	0.20	6.2
trans-nonachlor	0.055	8.0
4,4-DDE	0.40	8.0
Dieldrine	0.20	8.0
2,4-DDT	0.41	6.6
Endrine	0.5	8.0
Endosulfan II	0.05	8.0
PCB 118	0.17	8.0
cis-nonachlor	0.054	8.0
PCB 153	0.07	8.0
PCB 138	0.15	8.0
PCB 180	0.05	8.0

## 2.9 DOSAGE DES SUBSTANCES PERFLUORÉES (PFAS)

Le dosage de l'acide perfluorohexanoïque (PFHxA), acide perfluoroheptanoïque (PFHpA), acide perfluorooctanoïque (PFOA), acide perfluorononanoïque (PFNA), acide perfluorodécanoïque (PFDA), sulfonate de perfluorohexane (PFHxS) et sulfonate de perfluorooctane (PFOS) a été réalisé dans le sérum après extraction en phase solide et injection en chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse en tandem (LC-MS/MS), selon la méthode décrite dans Dufour et al., 2018.

### 2.9.1 Extraction

Vingt microlitres de standard interne (solution contenant chacun des 7 PFAS marqué au <sup>13</sup>C) sont ajoutés à 1 mL d'échantillon de sérum, qui est ensuite acidifié par 2 mL d'un mélange

acide formique-H<sub>2</sub>O (50/50) et mis au bain à ultra son pendant 15 minutes. Après centrifugation (5 min à 3000 rpm), l'échantillon acidifié est chargé sur une cartouche SPE Oasis WAX (60 mg) préalablement conditionnée avec 2 mL de méthanol et 2 mL d'eau ultrapure. La cartouche est lavée par 1 mL d'une solution d'acide formique (2% dans l'eau) et 1.5 mL de méthanol, avant d'être éluée par 2 mL d'un mélange méthanol-ammoniacque 98/2. L'éluat est évaporé à sec à 30°C sous un léger flux d'azote, et repris par 80 µL d'une solution d'acétate d'ammonium 2 mM /acétonitrile (75/25), et transférées dans un vial avec réducteur pour UPLC/MS.

## 2.9.2 Analyse par LC-MS/MS

La détermination finale est réalisée par LC-MS/MS sur une UHPLC Acquity (Waters) équipée d'une colonne Kinetex F5 (Phenomenex) de 100 mm, et couplée à un spectromètre de masse Quattro Premier opérant en électrospray négatif (ESI-)

### Programme LC

- Colonne : Kinetex F5 100 x 2.1 mm, 1.7 µm
- Température de la colonne : 40°C
- Volume d'injection : 10 µL
- Phase mobile A : acétate d'ammonium 2 mM
- Phase mobile B : Acétonitrile

	<b>Temps (min)</b>	<b>Débit (ml/min)</b>	<b>Composition A (%)</b>	<b>Composition B (%)</b>
Initiale		0.400	92	8
Rampe 1	0.5	0.400	92	8
Rampe 2	11.0	0.400	60	40
Rampe 3	11.2	0.400	0	100
Rampe 4	12.7	0.400	0	100
Rampe 5	13.0	0.400	92	8
Rampe 6	16.0	0.400	92	8

### Programme MS/MS

- Mode d'ionisation : électrospray négatif (ESI-)
- Voltage du capillaire : 1 kV
- Température de la source : 140°C
- Température de désolvatation : 400°C
- Débit du gaz de désolvatation (N<sub>2</sub>) : 13.33 mL/min
- Débit du gaz de collision : 0.1 ml/min
- Mode d'acquisition : MRM

Plage	Composé	Ion précurseur (m/z)	Ion produit (m/z)	Voltage du cône (V)	Énergie de collision (eV)	Dwell time (s)
3.9 – 6.2 min	PFHxA	312.8	<b>118.9</b>	10	20	0.15
			268.9	10	10	0.15
6.2 – 7.8 min	PFHpA	362.8	<b>168.9</b>	10	15	0.2
			318.9	10	10	0.2
7.8 – 9.2 min	PFHxS	398.7	<b>80</b>	45	35	0.1
			99	45	30	0.1
	PFOA	412.7	<b>168.9</b>	14	20	0.1
			368.9	14	10	0.1
9.2 – 10.1 min	PFNA	462.7	<b>219</b>	10	15	0.2
			418.9	10	10	0.2
10.1 – 11.2 min	PFOS	498.7	<b>80</b>	50	50	0.04
			99	50	35	0.04
	PFDA	512.7	<b>219</b>	13	20	0.1
			468.8	13	10	0.1

Les transitions en gras sont utilisées pour la quantification

### 2.9.3 Détermination des concentrations dans les échantillons inconnus

Chaque PFAS est quantifié avec son homologue marqué au <sup>13</sup>C. La courbe de calibration est réalisée au moyen de 7 solutions standards de concentrations croissantes (correspondant à des concentrations sériques allant de 0.5 à 50 µg/L pour le PFOS et PFOA, et de 0.1 à 10 µg/L pour les autres PFAS). Chaque série d'échantillons comprend la droite non extraite, un blanc réactif, 3 matériels provenant d'anciens programmes de Contrôles Externes (AMAP provenant de l'Institut National de Santé Publique du Québec – INSPQ), et jusque 55 échantillons inconnus.

### 2.9.4 Limites de quantification

Nom	LOQ (µg/L)	LOL (µg/L)
PFHxA	0.10	10.0
PFHpA	0.10	10.0
PFOA	0.50	50.0
PFNA	0.10	10.0
PFDA	0.10	10.0
PFHxS	0.15	10.0
PFOS	0.50	50.0

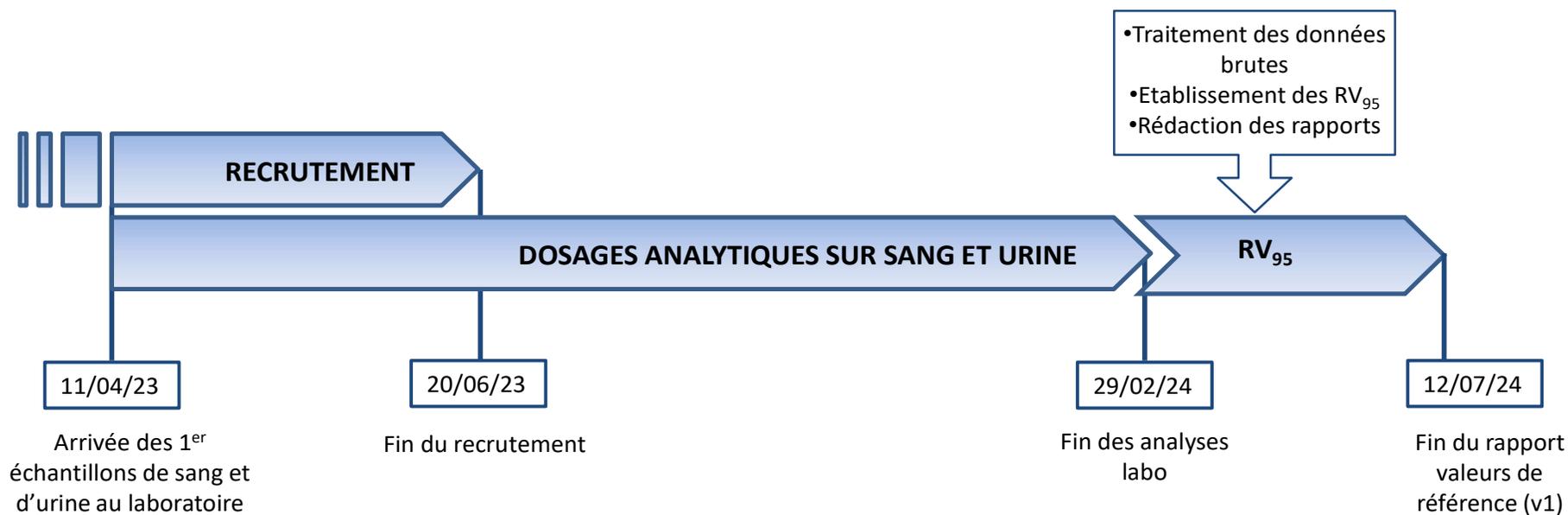
## 2.10 RECAPITULATIFS DES SUBSTANCES MESUREES

SUBSTANCES MESURÉES	SUBSTANCES MÈRES	TECHNIQUE ANALYTIQUE	LOQ (µg/L)
<b><i>Bisphénols</i></b>			
BPS	BPS	SPE-LLE-GC-MS/MS (dérivé au MSTFA)	0.09
BPF	BPF	SPE-LLE-GC-MS/MS (dérivé au MSTFA)	0.07
BPA	BPA	SPE-LLE-GC-MS/MS (dérivé au MSTFA)	0.29
BPZ	BPZ	SPE-LLE-GC-MS/MS (dérivé au MSTFA)	0.06
BPP	BPP	SPE-LLE-GC-MS/MS (dérivé au MSTFA)	0.09
<b><i>Mercuré</i></b>			
Hg	Hg	FIMS	0.25
<b><i>Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAPs)</i></b>			
1-naphtol	Naphtalène	LLE-GC-MS/MS (dérivé au MSTFA)	0.40
2-naphtol	Naphtalène	LLE-GC-MS/MS (dérivé au MSTFA)	0.40
2-hydroxyfluorène	Fluorène	LLE-GC-MS/MS (dérivé au MSTFA)	0.10
3-hydroxyfluorène	Fluorène	LLE-GC-MS/MS (dérivé au MSTFA)	0.10
9-hydroxyfluorène	Fluorène	LLE-GC-MS/MS (dérivé au MSTFA)	0.10
1-hydroxyphénanthrène	Phénanthrène	LLE-GC-MS/MS (dérivé au MSTFA)	0.10
2-hydroxyphénanthrène	Phénanthrène	LLE-GC-MS/MS (dérivé au MSTFA)	0.10
3-hydroxyphénanthrène	Phénanthrène	LLE-GC-MS/MS (dérivé au MSTFA)	0.10
4-hydroxyphénanthrène	Phénanthrène	LLE-GC-MS/MS (dérivé au MSTFA)	0.10
1-hydroxypyrene	Pyrene	LLE-GC-MS/MS (dérivé au MSTFA)	0.15
<b><i>Pesticides pyréthrinoïdes</i></b>			
c-DCCA	métabolites communs à plusieurs pesticides pyréthrinoïdes	LLE-GC-MS/MS (dérivé au MTBSFA)	0.15
t-DCCA		LLE-GC-MS/MS (dérivé au MTBSFA)	0.20
DBCA		LLE-GC-MS/MS (dérivé au MTBSFA)	0.30
4-F-3-PBA		LLE-GC-MS/MS (dérivé au MTBSFA)	0.11
3-PBA		LLE-GC-MS/MS (dérivé au MTBSFA)	0.09
<b><i>Pesticides organophosphorés</i></b>			
TCPY	Chlorpyrifos	LLE-GC-MS/MS (dérivé au MTBSFA)	0.08
DEP	métabolites communs à plusieurs pesticides organophosphorés	SPE-GC-MS/MS (dérivé au CIP)	0.5
DETP		SPE-GC-MS/MS (dérivé au CIP)	0.5
DEDTP		SPE-GC-MS/MS (dérivé au CIP)	0.5
DMTP		SPE-GC-MS/MS (dérivé au CIP)	0.5
DMDTP		SPE-GC-MS/MS (dérivé au CIP)	0.5

SUBSTANCES MESURÉES	SUBSTANCES MÈRES	TECHNIQUE ANALYTIQUE	LOQ (µg/L)
<b><i>Glyphosate</i></b>			
Glyphosate	Glyphosate	LLE-LC-MS/MS (dérivé au FMOC)	0.08
AMPA	AMPA	LLE-LC-MS/MS (dérivé au FMOC)	0.15
<b><i>Pesticides organochlorés et PCBs</i></b>			
a-Hexachlorohexane	a-Hexachlorohexane	LLE-SPE-GC-MS/MS	0.05
Hexachlorobenzène	Hexachlorobenzène	LLE-SPE-GC-MS/MS	0.08
b-Hexachlorohexane	b-Hexachlorohexane	LLE-SPE-GC-MS/MS	0.05
g-Hexachlorohexane	g-Hexachlorohexane	LLE-SPE-GC-MS/MS	0.05
Aldrine	Aldrine	LLE-SPE-GC-MS/MS	0.13
Heptachlore Epoxyde	Heptachlor	LLE-SPE-GC-MS/MS	0.20
Oxychlordane	Chlordane	LLE-SPE-GC-MS/MS	0.15
2,4-DDE	DDT	LLE-SPE-GC-MS/MS	0.08
trans-Chlordane	Chlordane	LLE-SPE-GC-MS/MS	0.20
trans-nonachlor	Impureté du chlordane	LLE-SPE-GC-MS/MS	0.06
4,4-DDE	DDT	LLE-SPE-GC-MS/MS	0.40
Dieldrine	Aldrine	LLE-SPE-GC-MS/MS	0.20
2,4-DDT	DDT	LLE-SPE-GC-MS/MS	0.41
Endrine	Endrine	LLE-SPE-GC-MS/MS	0.50
Endosulfan II	Endosulfan	LLE-SPE-GC-MS/MS	0.05
cis-nonachlor	Impureté du chlordane	LLE-SPE-GC-MS/MS	0.054
PCB 118	PCB 118	LLE-SPE-GC-MS/MS	0.17
PCB 153	PCB 153	LLE-SPE-GC-MS/MS	0.07
PCB 138	PCB 138	LLE-SPE-GC-MS/MS	0.15
PCB 180	PCB 180	LLE-SPE-GC-MS/MS	0.05
<b><i>PFAS</i></b>			
PFHxA	PFHxA	SPE-LC-MS/MS	0.10
PFHpA	PFHpA	SPE-LC-MS/MS)	0.10
PFOA	PFOA	SPE-LC-MS/MS	0.50
PFNA	PFNA	SPE-LC-MS/MS	0.10
PFDA	PFDA	SPE-LC-MS/MS	0.10
PFHxS	PFHxS	SPE-LC-MS/MS	0.15
PFOS	PFOS	SPE-LC-MS/MS	0.50

### 3 PLANNING DE LA REALISATION DES MESURES

Les dosages de bisphénols, mercure, HAPs, glyphosate, pesticides organophosphorés, pyréthriinoïdes, organochlorés et PFAS ont été réalisés au fur et à mesure de l'arrivée des échantillons, et en fonction des disponibilités des instruments LC et GC-MS/MS. Les diagrammes ci-dessous représentent le déroulement des évènements.



#### 4 RESULTATS DES ANALYSES

---

Les résultats sont exprimés en µg/L (et µg/ g créatinine en annexe) pour les dosages dans l'urine, et en µg/L et ng/g lipide pour les dosages dans le sérum.

La créatinine urinaire a été mesurée dans les échantillons sur un ARCHITECT ci 4100 (ABBOTT, Illinois, USA), par test colorimétrique cinétique fondé sur la méthode de Jaffé. Dans cette méthode, la créatinine forme avec le picrate en milieu alcalin un complexe jaune orangé. La vitesse de formation de la coloration est proportionnelle à la concentration en créatinine dans l'échantillon.

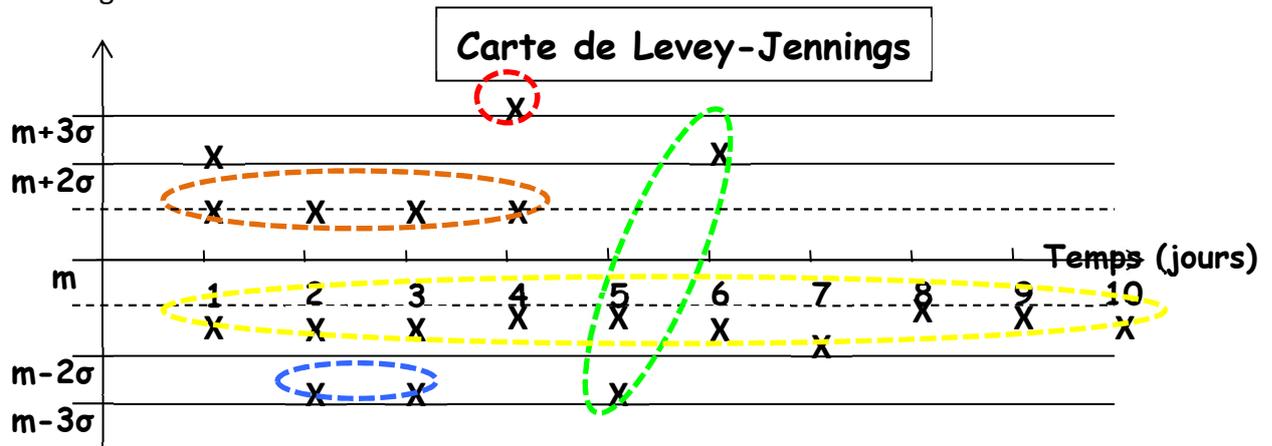
Le contenu lipidique des échantillons de sérum a été déterminé en dosant les triglycérides (TG) et le cholestérol total (CHT) par réactions enzymatiques sur l'automate ALINITY C + en utilisant les kits de réactifs Abbott prévus à cet effet.

La concentration en lipides totaux est ensuite calculée en utilisant la formule suivante (Phillips et al., 1989):

$$\text{Lipides totaux (g/L)} = \text{CHT (g/L)} \times 2.27 + \text{TG (g/L)} + 62.3$$

Le laboratoire de Toxicologie du CHU Liège est accrédité selon les normes ISO17025 et 15189 par Belac pour plusieurs dosages dont celui du mercure urinaire. Si le laboratoire n'est pas accrédité pour les autres dosages du biomonitoring (bisphénols, HAPs, glyphosate, pesticides organophosphorés, organochlorés et pyréthrinoïdes), la validation analytique ainsi que les mesures pour assurer la qualité des résultats pour chaque échantillon sont identiques aux méthodes accréditées. Ces mesures consistent à encadrer les échantillons (20 à 50 maximum par série suivant l'analyse) par différents contrôles de qualité internes, et un blanc réactif afin de s'assurer du contrôle d'une éventuelle contamination de la verrie, des réactifs, et des instruments du laboratoire. La droite de calibration suivant le même cheminement que les échantillons (à l'exception des pesticides organochlorés et PCBs) et étant donc impactée de la même manière, les concentrations des échantillons ne sont pas corrigées par le blanc réactif. Néanmoins, si ce dernier montre des concentrations supérieures à la LOQ, la série d'échantillons est invalidée.

De plus, une séquence est validée si les QCI inclus dans cette séquence respectent les règles de Westgard.



Règles de Westgard :

**1<sub>2s</sub>** : la valeur dépasse  $m \pm 2\sigma$  → alerte

**1<sub>3s</sub>** : la valeur dépasse  $m \pm 3\sigma$  → rejet

**2<sub>2s</sub>** : 2 QC consécutifs situés à plus de  $2\sigma$  du même côté de la moyenne → rejet

**R<sub>4s</sub>** : Différence entre la valeur la + élevée et la valeur la + basse dépasse  $4\sigma$  → alerte

**4<sub>1s</sub>** : 4 QC consécutifs situés à plus de  $1\sigma$  du même côté de la moyenne → alerte

**10<sub>m</sub>** : 10 QC consécutifs du même côté de la moyenne → alerte

#### 4.1 CONTROLES DE QUALITE INTERNES UTILISES LORS DE LA PHASE 1

Les valeurs des différents contrôles de qualité internes ainsi que les écarts acceptables sont reprises dans les tableaux ci-dessous pour chaque marqueur mesuré. Certains matériaux ont été dilués afin de rester dans les gammes de concentrations rencontrées en population générale (pour le TCPY par exemple).

<b>MERCURE</b>		
	<b>Hg (µg/L)</b>	
	Valeur cible	Ecart acceptable
QC maison N1	2.5	2s: 2.16-2.84 3s: 2.00-3.00
QC maison N2	7.5	2s: 6.97-8.03 3s: 6.71-8.29
G EQUAS 63 8B	0.47	0.29-0.65
G EQUAS 65 8B	0.29	0.20-0.38
G EQUAS 66 8B	0.74	0.50-0.98
G EQUAS 67 8A	0.28	0.13-0.43
G EQUAS 68 8B	0.39	0.24-0.54
G EQUAS 71 8B	0.60	0.39-0.81
Seronorm Trace Element L2*	41.5	2s: 34.1-48.9 3s: 30.4-52.6

\* Dilué 10x

<b>BISPHÉNOLS</b>										
	<b>BPS (µg/L)</b>		<b>BPF (µg/L)</b>		<b>BPA (µg/L)</b>		<b>BPZ (µg/L)</b>		<b>BPP (µg/L)</b>	
	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable
QC maison N1	0.15	2s: 0.12-0.18 3s: 0.11-0.20	0.15	2s: 0.12-0.18 3s: 0.11-0.20	0.75	2s: 0.60-0.90 3s: 0.52- 0.97	0.15	2s: 0.12-0.18 3s: 0.11-0.20	0.15	2s: 0.12-0.18 3s: 0.11-0.20
QC maison N2	3.00	2s: 2.40-3.60 3s: 2.10-3.90	3.00	2s: 2.40-3.60 3s: 2.10-3.90	2.10 – 3.90	2s: 12.0-18.0 3s: 10.5-19.5	3.00	2s: 2.40-3.60 3s: 2.10-3.90	3.00	2s: 2.40-3.60 3s: 2.10-3.90
G EQUAS 65 14/15B	-	-	-	-	9.29	7.49-11.09	-	-	-	-
G EQUAS 66 14/15A	-	-	-	-	3.38	2.39-4.37	-	-	-	-
G EQUAS 67 14/15A	-	-	-	-	0.58	0.37-0.79	-	-	-	-
G EQUAS 67 14/15B	-	-	-	-	13.83	10.47-17.19	-	-	-	-
G EQUAS 68 14/15A	-	-	-	-	3.35	2.42-4.28	-	-	-	-
G EQUAS 69 14/15A	-	-	-	-	1.08	0.72-1.44	-	-	-	-
G EQUAS 70 14/15A	-	-	-	-	1.64	1.16-2.12	-	-	-	-
G EQUAS 72 14/15A	0.35	0.26-0.44	0.66	0.48-0.84	0.81	0.54-1.08	-	-	-	-
OSEQAS 2105	0.812	0.479 -1.15	1.04	0.601-1.48	7.39	4.28-10.5	0.478	0.282-0.674	-	-
OSEQAS 2202	0.274	0.143 -0.405	-	-	1.05	0.479 -1.62	0.765	0.458 -1.07	-	-
OSEQAS 2204	0.192	0.112 -0.272	1.11	0.623-1.60	2.39	1.43 -3.35	2.69	1.52 -3.86	-	-
OSEQAS 2205	0.233	0.117 -0.349	-	-	1.03	0.485 -1.58	1.15	0.650-1.65	-	-
OSEQAS 2206	0.173	0.0850 -0.261	0.488	0.274-0.702	10.4	6.11-14.7	3.52	2.06-4.98	-	-
OSEQAS 2304	1.53	0.913 -2.15	0.641	0.378 -0.904	1.31	0.722 -1.90	0.845	0.497 -1.19	-	-

<b>HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES (HAPs)</b>										
	<b>1-NAP µg/L</b>		<b>2-NAP (µg/L)</b>		<b>2-FLU (µg/L)</b>		<b>3-FLU (µg/L)</b>		<b>9-FLU (µg/L)</b>	
	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable
OSEQAS 1901	0.776	0.408-1.14	0.80	0.472-1.13	0.842	0.466-1.22	0.511	0.185-0.837	0.845	0.483-1.21
OSEQAS 1902	7.25	3.47-11.0	8.74	5.23-12.3	4.74	2.82-6.66	2.70	1.6-3.80	1.67	0.938-2.40
OSEQAS 2101	-	-	17.1	10.1-24.1	1.60	0.939-2.26	4.71	2.72-6.70	0.991	0.564-1.42
OSEQAS 2104	7.54	4.38-10.7	13.2	7.88-18.5	4.16	2.41-5.91	3.04	1.76-4.32	1.66	0.949-2.37
OSEQAS 2106	-	-	16.4	9.80-23.0	2.01	1.18-2.84	0.909	0.538-1.28	0.889	0.354-1.42
OSEQAS 2201	-	-	24.3	14.5-34.1	2.63	1.56-3.70	2.51	1.47-3.55	0.997	0.466-1.53
OSEQAS 2202	-	-	22.7	13.5-31.9	0.820	0.480-1.16	1.86	1.05-2.67	0.799	0.060-1.54
G EQUAS 66 14/15A	7.65	5.64-9.66	9.71	7.07-12.5	-	-	-	-	-	-
G EQUAS 66 14/15B	16.91	13.16-20.66	15.35	13.13-17.57	-	-	-	-	-	-
G EQUAS 67 14/15A	2.58	1.77-3.39	3.74	2.72-4.76	-	-	-	-	-	-
G EQUAS 69 14/15A	10.71	7.98-13.44	13.10	9.32-16.88	-	-	-	-	-	-
G EQUAS 69 14/15B	61.10	47.00-75.20	64.35	50.25-78.45	-	-	-	-	-	-
G EQUAS 70 14/15A	4.08	2.97-5.19	4.84	3.64-6.04	-	-	-	-	-	-
G EQUAS 71 14/15B	38.16	30.03-46.29	39.70	33.16-46.24	-	-	-	-	-	-

<b>HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES (HAPs) suite</b>										
	<b>1-PHE (µg/L)</b>		<b>2-PHE (µg/L)</b>		<b>3-PHE (µg/L)</b>		<b>4-PHE (µg/L)</b>		<b>1-PY (µg/L)</b>	
	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable						
OSEQAS 1901	0.776	0.408-1.14	0.80	0.472-1.13	0.842	0.466-1.22	0.511	0.185-0.837	0.845	0.483-1.21
OSEQAS 1902	0.923	0.525-1.32	1.10	0.613-1.59	1.25	0.744-1.76	0.359	0.174-0.544	1.33	0.742-1.92
OSEQAS 2101	0.512	0.296-0.728	0.695	0.397-0.993	1.40	0.823-1.98	0.441	0.222-0.660	0.772	0.441-1.10
OSEQAS 2104	0.874	0.469-1.28	1.08	0.631-1.53	1.07	0.613-1.53	0.516	0.287-0.745	1.10	0.622-1.58
OSEQAS 2106	0.340	0.172-0.508	0.230	0.131-0.329	0.354	0.199-0.509	0.131	0.076-0.186	0.289	0.165-0.413
OSEQAS 2201	1.13	0.622-1.64	0.746	0.424-1.07	1.03	0.601-1.46	0.312	0.167-0.457	1.97	1.14-2.80
OSEQAS 2202	0.311	0.169-0.453	0.597	0.319-0.875	0.415	0.245-0.585	0.364	0.195-0.533	0.348	0.206-0.490
G EQUAS 66 14/15A	-	-	-	-	-	-	-	-	0.11	0.05-0.17
G EQUAS 66 14/15B	-	-	-	-	-	-	-	-	0.23	0.17-0.29
G EQUAS 67 14/15A	-	-	-	-	-	-	-	-	0.15	0.09-0.21
G EQUAS 69 14/15A	-	-	-	-	-	-	-	-	0.31	0.22-0.40
G EQUAS 69 14/15B	-	-	-	-	-	-	-	-	0.66	0.48-0.84
G EQUAS 70 14/15A					-	-	-	-	0.20	0.14-0.26-
G EQUAS 71 14/15B					-	-	-	-	0.67	0.49-0.85

<b>PESTICIDES PYRÉTHRINOÏDES</b>										
	<b>DBCA (µg/L)</b>		<b>c-DCCA (µg/L)</b>		<b>t-DCCA (µg/L)</b>		<b>3-PBA (µg/L)</b>		<b>4-F-3-PBA (µg/L)</b>	
	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable
QC maison N1	1.5	2s : 1.20-1.80 3s : 1.05-1.95	1.5	2s : 1.20-1.80 3s : 1.05-1.95	1.5	2s : 1.20-1.80 3s : 1.05-1.95	1.5	2s : 1.20-1.80 3s : 1.05-1.95	1.5	2s : 1.20-1.80 3s : 1.05-1.95
QC maison N1	15	2s : 12.0-18.0 3s : 10.5-19.5	15	2s : 12.0-18.0 3s : 10.5-19.5	15	2s : 12.0-18.0 3s : 10.5-19.5	15	2s : 12.0-18.0 3s : 10.5-19.5	15	2s : 12.0-18.0 3s : 10.5-19.5
G EQUAS 69 9A	0.427	0.292-0.562	1.091	0.737-1.445	1.408	1.048-1.768	2.600	1.967-3.233	0.59	0.44-0.74
G EQUAS 69 9B*	3.050	2.153-3.947	3.480	2.769-4.191	6.793	5.467-8.119	14.082	11.337-16.827	1.91	1.46-2.36
G EQUAS 67 9B*	4.560	3.246-5.874	3.223	2.506-3.940	3.970	3.172-4.768	9.570	7.818-11.322	4.36	3.43-5.29
G EQUAS 71 9A	0.581	0.419-0.743	0.47	0.314-0.626	0.959	0.698-1.220	1.363	1.021-1.705	0.27	0.21-0.33

\* dilué 2x

<b>PESTICIDES ORGANOPHOSPHORÉS</b>										
	<b>DMTP (µg/L)</b>		<b>DMDTP (µg/L)</b>		<b>DEP (µg/L)</b>		<b>DETP (µg/L)</b>		<b>DEDTP (µg/L)</b>	
	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable
G EQUAS 69 9A	11.41	7.36-15.46	2.35	1.45-3.25	8.32	6.01-10.63	5.36	3.83-6.89	0.62	0.41-0.83
G EQUAS 69 9B	40.58	28.28-52.88	7.40	4.67-10.13	51.22	40.15-62.29	44.51	36.11-52.91	1.71	1.14-2.28
G EQUAS 70 9A	5.36	3.14-7.58	1.92	1.32-2.52	12.35	8.39-16.31	12.89	8.75-17.03	0.29	0.17-0.41
G EQUAS 70 9B	31.67	20.66-42.68	7.93	5.77-10.09	41.21	30.32-52.10	49.93	37.21-62.65	1.14	0.78-1.50
G EQUAS 71 9B	94.05	66.12-121.98	7.11	4.95-9.27	35.48	25.79-45.17	57.07	43.21-70.93	1.08	0.75-1.41

<b>PESTICIDES ORGANOPHOSPHORÉS</b>		
	<b>TCPY (µg/L)</b>	
	Valeur cible	Ecart acceptable
QC maison N1	1.5	2s : 1.20-1.80 3s : 1.05-1.95
QC maison N2	15	2s : 12.0-18.0 3s : 10.5-19.5
G EQUAS 66 14/15B*	25.07	20.42-29.72
G EQUAS 69 14/15A	3.95	3.14-4.76
G EQUAS 69 14/15B*	11.80	9.79-13.81
G EQUAS 70 14/15A	1.79	1.31-2.27

\* dilué 2x

<b>GLYPHOSATE</b>				
	<b>Glyphosate (µg/L)</b>		<b>AMPA (µg/L)</b>	
	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable
QC maison N1	2.00	2s: 1.60-2.40 3s: 1.40-2.60	4.00	2s: 3.20-4.80 3s: 2.80-5.20
G EQUAS 67 9B	2.39	1.85-2.93	-	-
G EQUAS 68 9A	0.35	0.26-0.44	-	-
G EQUAS 68 9B	2.91	2.22-3.60	-	-
G EQUAS 69 9A	0.45	0.33-0.57	-	-
G EQUAS 69 9B	1.86	1.44-2.28	-	-
G EQUAS 70 9A	0.22	0.16-0.28	-	-
G EQUAS 70 9B	1.03	0.76-1.30	-	-
G EQUAS 71 9A	0.33	0.24-0.42	-	-
G EQUAS 71 9B	1.57	1.22-1.94	-	-

<b>PESTICIDES ORGANOCHLORÉS</b>												
	<b>a-HCH (µg/L)</b>		<b>HCB (µg/L)</b>		<b>b-HCH (µg/L)</b>		<b>g-HCH (µg/L)</b>		<b>Aldrine (µg/L)</b>		<b>Hept. Epoxyde (µg/L)</b>	
	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable
QC maison N1	0.518	2s: 0.416-0.620 3s: 0.366-0.670	0.557	2s: 0.460-0.654 3s: 0.412-0.702	0.524	2s: 0.421-0.627 3s: 0.370-0.678	0.558	2s: 0.455-0.661 3s: 0.404-0.712	0.538	2s: 0.470-0.606 3s: 0.436-0.640	0.534	2s: 0.426-0.642 3s: 0.372-0.696
QC maison N2	1.99	2s: 1.48-2.50 3s: 1.23-2.75	2.05	2s: 1.76-2.34 3s: 1.61-2.49	2.03	2s: 1.59-2.47 3s: 1.37-2.69	2.08	2s: 1.68-2.48 3s: 1.48-2.68	2.05	2s: 1.76-2.34 3s: 1.61-2.49	1.99	2s: 1.41-2.57 3s: 1.12-2.86
W2105*	-	-	1.57	1.05-2.09	0.636	0.424-0.848	-	-	-	-	0.98	0.662-1.30
W2106**	-	-	0.88	0.580-1.18	0.285	0.187-0.383	-	-	-	-	0.592	0.408-0.776
	<b>Oxychlordane (µg/L)</b>		<b>2,4-DDE (µg/L)</b>		<b>t-Chlordane (µg/L)</b>		<b>t-nonachlor (µg/L)</b>		<b>4,4-DDE (µg/L)</b>		<b>Dieldrine (µg/L)</b>	
	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable
QC maison N1	0.538	2s: 0.455-0.621 3s: 0.414-0.662	0.497	2s: 0.407-0.578 3s: 0.361-0.633	0.569	2s: 0.456-0.682 3s: 0.400-0.738	0.544	2s: 0.453-0.635 3s: 0.407-0.681	0.505	2s: 0.442-0.568 3s: 0.411-0.599	0.540	2s: 0.433-0.647 3s: 0.380-0.700
QC maison N2	2.11	2s: 1.84-2.38 3s: 1.71-2.51	1.93	2s: 1.65-2.21 3s: 1.51-2.35	2.14	2s: 1.57-2.71 3s: 1.29-2.99	2.03	2s: 1.73-2.33 3s: 1.58-2.48	2.01	2s: 1.61-2.41 3s: 1.41-2.61	1.97	2s: 1.60-2.34 3s: 1.41-2.53
W2105*	0.413	0.302-0.524	-	-	-	-	2.6	2.09-3.11	8.08	6.26-9.90	0.208	0.144-0.272
W2106**	1.22	0.885-1.56	-	-	-	-	0.5	0.375-0.625	2.32	1.75-2.89	1.34	0.978-1.70

\*dilué 2x

\*\*dilué 4x

<b>PESTICIDES ORGANOCHLORÉS</b>								
	<b>2,4-DDT (µg/L)</b>		<b>Endrine (µg/L)</b>		<b>Endosulfan II (µg/L)</b>		<b>cis-nonachlor (µg/L)</b>	
	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable
QC maison N1	0.484	2s: 0.359-0.609 3s: 0.297-0.671	0.520	2s: 0.456-0.584 3s: 0.423-0.617	0.541	2s: 0.447-0.635 3s: 0.400-0.682	0.511	2s: 0.396-0.626 3s: 0.338-0.684
QC maison N2	1.95	2s: 1.49-2.41 3s: 1.26-2.64	2.01	2s: 1.71-2.31 3s: 1.56-2.46	2.12	2s: 1.75-2.49 3s: 1.57-2.67	2.05	2s: 1.71-2.39 3s: 1.55-2.55
W2105*	-	-	-	-	-	-	-	-
W2106**	-	-	-	-	-	-	0.888	0.526-1.25
<b>PCBs</b>								
	<b>PCB 118 (µg/L)</b>		<b>PCB 138 (µg/L)</b>		<b>PCB 153 (µg/L)</b>		<b>PCB 180 (µg/L)</b>	
	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable
QC maison N1	0.506	2s: 0.406-0.606 3s: 0.356-0.656	0.518	2s: 0.425-0.611 3s: 0.378-0.658	0.515	2s: 0.413-0.617 3s: 0.362-0.668	0.508	2s: 0.410-0.606 3s: 0.361-0.655
QC maison N2	2.05	2s: 1.49-2.41 3s: 1.26-2.64	2.02	2s: 1.72-2.32 3s: 1.57-2.47	1.95	2s: 1.66-2.24 3s: 1.51-2.39	1.96	2s: 1.58-2.34 3s: 1.38-2.54
W2105*	0.349	0.26-0.438	0.956	-	0.58	0.408-0.752	1.6	1.13-2.07
W2106**	0.496	0.373-0.619	0.867	0.729-1.005	1.73	1.24-2.22	0.426	0.299-0.553

\*dilué 2x

\*\*dilué 4x

<b>PFAS</b>										
	<b>PFHxS (µg/L)</b>		<b>PFOS (µg/L)</b>							
	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable						
AM-S-Y1801	1.64	1.13-2.15	27.1	18.3-35.9						
AM-S-Y1802	14.1	9.79-18.4	86	60.2-112						
AM-S-Y1803	4.3	2.96-5.64	58.5	40.7-76.3						
AM-S-Y2004	1.11	0.711-1.51	4.15	2.46-5.84						
AM-S-Y2202	0.776	0.450-1.10	4.78	3.29-6.27						
AM-S-Y2204	0.623	0.336-0.910	7.07	4.75-9.39						
AM-S-Y2208	2.74	1.94-3.54	8.79	6.08-11.5						
AM-S-Y2209	5.00	3.66-6.34	0.669	0.465-0.873						
	<b>PFHxA (µg/L)</b>		<b>PFHpA (µg/L)</b>		<b>PFOA (µg/L)</b>		<b>PFNA (µg/L)</b>		<b>PFDA (µg/L)</b>	
	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable	Valeur cible	Ecart acceptable
AM-S-Y1801	3.79	2.63-4.95	1.49	0.874-2.10	50.2	38.9-61.5	2.35	1.60-3.10	0.407	0.227-0.587
AM-S-Y1802	1.19	0.822-1.56	0.843	0.495-1.19	5.18	3.84-6.52	0.884	0.595-1.17	1.37	0.794-1.95
AM-S-Y1803	2.44	1.68-3.20	3.85	2.24-5.45	8.96	6.85-11.1	1.52	1.05-1.99	3.96	2.32-5.61
AM-S-Y2004	3.22	2.49-3.95	0.882	0.521-1.24	10.4	7.99-12.8	0.967	0.680-1.25	1.32	0.789-1.85
AM-S-Y2202	6.19	4.85-7.53	0.705	0.489-0.921	1.07	0.717-1.42	2.18	1.60-2.76	0.758	0.526-0.990
AM-S-Y2204	2.11	1.60-2.62	2.3	1.59-3.01	1.18	0.806-1.55	0.74	0.503-0.977	1.23	0.848-1.61
AM-S-Y2208	0.919	0.649-1.19	1.82	1.26-2.38	2.76	2.04-3.48	0.476	0.308-0.644	0.719	0.501-0.937
AM-S-Y2209	1.62	1.21-2.03	3.83	2.65-5.01	20.5	15.8-25.2	1.00	0.611-1.14	1.86	1.30-2.42

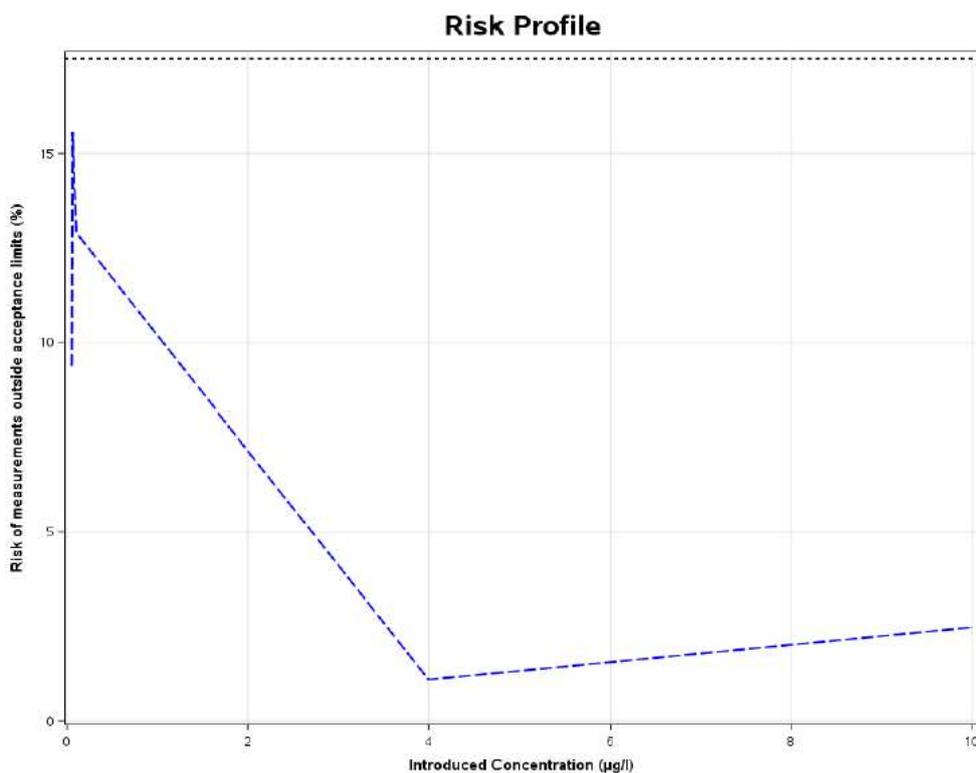
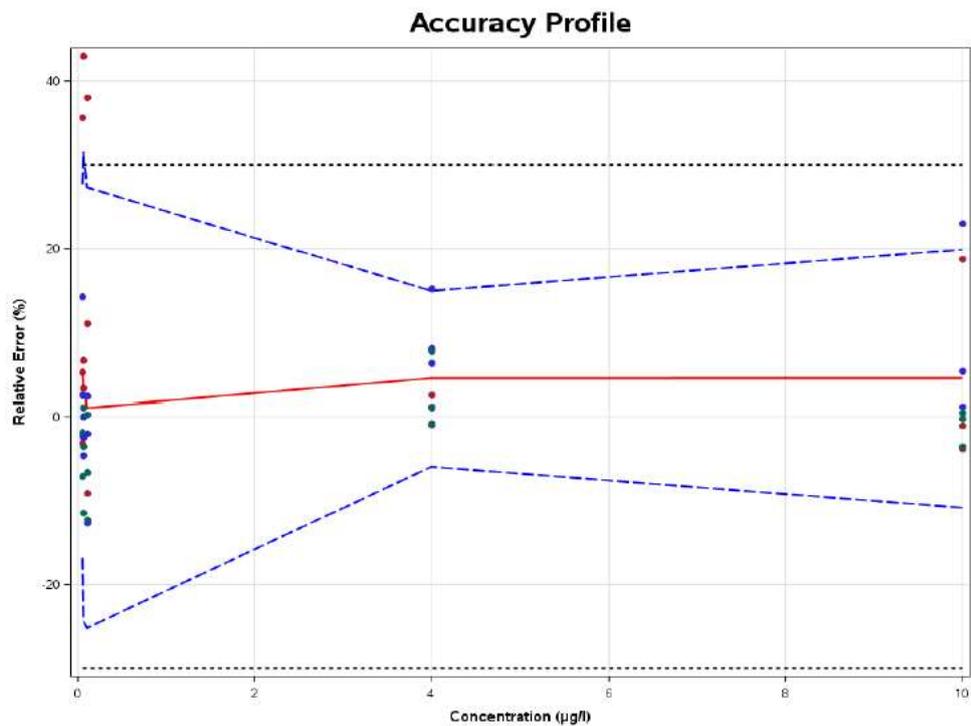
## 5 CONTROLES DE QUALITE EXTERNE ET CERTIFICATION

---

### 5.1 VALIDATION ANALYTIQUE

Les méthodes analytiques ont été validées selon la norme ISO17025 et les directives de la Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques (SFSTP). Cette validation basée sur l'approche de l'erreur totale a été réalisée à l'aide du logiciel ENOVAL (Arlenda, Liege, Belgique). La linéarité, la précision inter et intra essai (répétabilité et reproductibilité) et la justesse ont été évalués en mesurant les analytes ciblés en triple dans des échantillons d'eau ou d'urine synthétique (pour éviter les contaminations liées à la matrice de départ) fortifiés à différents niveaux de concentrations, et ce à trois reprises (trois jours différents). La droite de calibration a été réalisée en double lors de chaque jour de validation.

La justesse est définie comme l'étroitesse d'accord entre la valeur considérée comme vraie et la valeur mesurée. On l'exprime en termes de biais relatif. La fidélité exprime l'étroitesse d'accord entre une série de mesures d'échantillons préparés à partir d'un même échantillon homogène. Elle est étudiée en termes de répétabilité et de fidélité intermédiaire. La répétabilité est la mesure de la fidélité sur un court intervalle de temps, on parle aussi de précision intra-essai. On l'évalue à l'aide du coefficient de variation (CV) qui mesure la dispersion des données autour de la moyenne. L'incertitude de mesure caractérise la dispersion des valeurs obtenues qui pourrait raisonnablement être attribuée à la mesure. On la qualifie d'étendue car on définit un intervalle de confiance de largeur  $\pm 30\%$  autour de la valeur moyenne de la mesure. Le profil d'exactitude reporte le biais relatif (en %) en fonction de la concentration (en  $\mu\text{g/L}$ ). Chaque point illustre l'erreur relative de la concentration obtenue par rapport à la concentration vraie et ce, pour toutes les séries. Un calcul de la moyenne de chaque série est effectué pour obtenir une courbe de biais relatif moyen (en rouge). La méthode est d'autant plus exacte que la courbe tend vers 0% de biais. On établit un intervalle de tolérance de 17,5% (pointillés bleus) autour de la courbe de biais relatif moyen. Ceci signifie que 82,5% des concentrations comprises dans cet intervalle, appelé aussi  $\beta$ -expectation, sont exactes. Enfin, on établit un intervalle d'acceptation (pointillés noirs) représentant le biais relatif maximal toléré. Dans notre cas, les limites hautes et basses sont fixées à 30%. Le profil de risque représente le risque (%), pour chaque niveau de concentration, d'avoir des valeurs hors des limites d'acceptation. Le biais limite toléré (pointillés noirs) a été fixé à 17,5%. Les valeurs de la LOQ inférieure et supérieure sont évaluées à l'aide du profil d'exactitude, et correspondent à l'intersection entre l'intervalle de tolérance et les limites d'acceptation. Un exemple de profil d'exactitude et de profil de risque sont représentés ci-dessous pour le bisphénol-S. Dans cet exemple, les LOQ inférieure et supérieure sont respectivement égales à 0.09 et 10  $\mu\text{g/L}$ .



La méthode est considérée comme valide pour l'intervalle de dosage où le profil d'exactitude est compris dans les limites d'acceptation fixées (à 30%). De plus, les biais relatifs doivent être inférieurs à 15%, les CV de la répétabilité intra-jours et de la variabilité inter-jours (fidélité intermédiaire) inférieurs à 15% et 20% respectivement, et l'incertitude de mesure inférieure à 35%, dans le domaine de concentrations validé.

## 5.2 CONTROLES DE QUALITE EXTERNES

Le laboratoire participe plusieurs fois par an à des programmes de contrôles de qualité externes pour les différents marqueurs dosés :

- **Pour le dosage des bisphénols :**

**G-EQUAS** (German External Quality Assessment Scheme for Analyses in Biological Materials) organisé par the Institute and Out-Patient Clinic for Occupational, Social and Environmental Medicine of the University Erlangen-Nuremberg : 2 échantillons 1 à 2x/an (BPA)

**OSEQAS** (External Quality Assessment Scheme for Organic Substances in Urine) organisé par l'Institut National de Santé Publique du Québec – INSPQ: 3 échantillons 2x/an (BPA, BPS, BPZ, BPF)

- **Pour le dosage du mercure :**

**G-EQUAS** (German External Quality Assessment Scheme for Analyses in Biological Materials): 2 échantillons 1 à 2x/an

**Trace Elements External Quality Assessment Scheme** OELM organisé par Sciensano: 2 échantillons 12 fois par an

**QMEQAS** (Quebec Multielement External Quality Assessment Scheme) organisé par l'Institut National de Santé Publique du Québec – INSPQ:3 échantillons 3 fois par an.

- Pour le dosage de métabolites d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPS) :

**G-EQUAS** (German External Quality Assessment Scheme for Analyses in Biological Materials): 2 échantillons 1 à 2x/an (1- et 2-NAP, 1-PY)

**OSEQAS** (External Quality Assessment Scheme for Organic Substances in Urine): 3 échantillons 2x/an (tous les métabolites dosés)

- Pour le dosage de métabolites de pesticides pyréthrinoïdes :

**G-EQUAS** (German External Quality Assessment Scheme for Analyses in Biological Materials): 2 échantillons 1 à 2x/an (tous les métabolites dosés)

- Dosage de métabolites de pesticides organophosphorés :

**G-EQUAS** (German External Quality Assessment Scheme for Analyses in Biological Materials): 2 échantillons 1 à 2x/an (tous les métabolites dosés)

- Pour le dosage du glyphosate :

**G-EQUAS** (German External Quality Assessment Scheme for Analyses in Biological Materials): 2 échantillons 1 à 2x/an (glyphosate)

**OSEQAS** (External Quality Assessment Scheme for Organic Substances in Urine): 3 échantillons 2x/an (glyphosate et AMPA)

- Pour le dosage des pesticides organochlorés et PCBs :

**AMAP** Ring Test for Persistent Organic Pollutants in Human Serum organisé par l'Institut national de Santé Publique du Québec : 3 échantillons 3x/an (b-HCH, p,p'-DDE, cis-Nonachlor,

Dieldrine, Heptachlore epoxide, HCB, Oxychlorane, trans-Nonachlor, PCB-118 , PB-138, PCB-153, PCB-180)

**G-EQUAS** (German External Quality Assessment Scheme for Analyses in Biological Materials): 2 échantillons 1 à 2x/an (a-HCH, b-HCH, g-HCH, HCB, p,p'-DDE, PCB-138, PCB-153, PCB-180)

- **Pour le dosage des PFAS :**

**G-EQUAS** (German External Quality Assessment Scheme for Analyses in Biological Materials) organisé par the Institute and Out-Patient Clinic for Occupational, Social and Environmental Medicine of the University Erlangen-Nuremberg : 2 échantillons 1 à 2x/an

**AMAP** Ring Test for Persistent Organic Pollutants in Human Serum organisé par l'Institut national de Santé Publique du Québec : 3 échantillons 3x/an

Le laboratoire a également passé avec succès les différents rounds du programme QA/QC organisé en 2019-2020 dans le cadre de HBM4EU (bisphénols-A, -S et -F, métabolites de phtalates, composés perfluorés, retardateurs de flamme bromés, Cd dans le sang et l'urine).

Le certificat pour les bisphénols et les PFAS se trouvent ci-dessous.



## CERTIFICATE OF PARTICIPATION

This is to certify that

***Laboratory of Toxicology. CHU Liège***

has participated in the HBM4EU QA/QC programme and its successful performance has resulted in its qualification as HBM4EU laboratory for the analysis of :

***BPA, BPS and BPF metabolites in human urine***

LABERCA (ONIRIS/INRA)

Organiser of the BISPHENOLS exercise



Argelia Castaño  
Marta Esteban López

WP9 leaders



Thomas Göen

Task 9.4 leader



On behalf of the  
HBM4EU Quality Assurance Unit



## CERTIFICATE OF PARTICIPATION

This is to certify that

***Laboratory of Toxicology. CHU Liège***

has participated in the HBM4EU QA/QC programme and its successful performance has resulted in its qualification as HBM4EU laboratory for the analysis of:

***PFPeA, PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFHxS, and PFOS in human serum***

Institute and Outpatient Clinic of Occupational,  
Social and Environmental Medicine (IPASUM)

Organiser of the per- and polyfluoroalkyl  
substances (PFAS) exercise



Argelia Castaño  
Marta Esteban López

WP9 leaders



Thomas Göen

Task 9.4 leader



On behalf of the  
HBM4EU Quality Assurance Unit

## REFERENCES

Dufour, P., Pirard, C., Seghaye, M.-C., Charlier, C. Association between organohalogenated pollutants in cord blood and thyroid function in newborns and mothers from Belgian population. *Environmental Pollution* 238 (2018) 389e396

Phillips, D.L., Pirkle, J.L., Burse, V.W., Bernert, J.T., Omar Henderson, L., Needham, L.L., 1989. Chlorinated hydrocarbon levels in human serum: effects of fasting and feeding. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 18:495–500.

Pirard, C., Compere, S., Firquet, K., Charlier, C. The current environmental levels of endocrine disruptors (mercury, cadmium, organochlorine pesticides and PCBs) in a Belgian adult population and their predictors of exposure. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 221 (2018) 211–222.

Pirard, C., Remy, S., Giusti, A., Champon, L., Charlier, C. Assessment of children's exposure to currently used pesticides in wallonia, Belgium. *Toxicology Letters* 329 (2020) 1–11

Pirard, C., Charlier, C. Urinary levels of parabens, phthalate metabolites, bisphenol A and plasticizer alternatives in a Belgian population: Time trend or impact of an awareness campaign? *Environmental Research* 214 (2022) 113852.